

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN AN MÄUSEN ÜBER DEN
INFEKTIONSWEG VON TOXOPLASMA GONDII NACH ORALER
AUFNAHME VON TOXOPLASMA-CYSTEN.
EIN BEITRAG ZUR EPIDEMIOLOGIE DER TOXOPLASMOSE.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Gerda Mannesmann geb. Schöler
aus Brück

1967

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN AN MÄUSEN ÜBER DEN
INFEKTIONSWEG VON TOXOPLASMA GONDII NACH ORALER
AUFNAHME VON TOXOPLASMA-CYSTEN.
EIN BEITRAG ZUR EPIDEMIOLOGIE DER TOXOPLASMOSE.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gerda Mannesmann geb. Schöler
aus Brück

1. Referent Dr. H. Werner
2. Referent Prof. Dr. F. Peus
3. Referent Prof. Dr. H. Kemper

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Februar 1967

Tag der Promotion:

13. Juli 1967



Inhaltsverzeichnis

Seite

A. EINLEITUNG	1
B. ERGEBNISSE DER TOXOPLASMOSEFORSCHUNG	
I. Erforschungsgeschichte	4
II. Morphologie und Biologie	5
III. Stellung im System	12
IV. Connatale Übertragung	12
V. Postnatale Übertragung	13
<u>1. Indirekte Übertragung</u>	
<u>a. durch blutsaugende Arthropoden</u>	14
<u>2. Direkte Übertragung</u>	15
<u>a. durch Schmutz- und Schmierinfektion</u>	17
<u>b. durch orale Infektion</u>	18
VI. Experimentelle, orale Infektion mit Toxoplasma gondii	20
<u>1. ohne Berücksichtigung des Toxoplasma-</u> <u>Stadiums</u>	22
<u>2. durch Trophozoite und Proliferationsformen</u>	24
<u>3. durch Cysten</u>	27
C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN UND ERGEBNISSE	
I. Material und Methodik	29

II. Versuche mit dem nicht cystenbildenden Toxo- plasma-Stamm Bk	
<u>1. Fütterungsversuche</u>	37
<u>2. Sondenversuche</u>	39
III. Versuche mit dem cysten- bildenden Toxoplasma- Stamm ALT	
<u>1. Vorversuche</u>	41
<u>2. Hauptversuche</u>	
<u>a. Untersuchungen am Digestionstrakt</u>	
a. Magen	44
b. Darm	50
<u>b. Ausbreitung der Parasiten im Körper</u>	
<u>nach Verlassen der Darmwand</u>	64
a. Blut	65
b. Organe	66
D. DISKUSSION	69
E. ZUSAMMENFASSUNG	81
F. LITERATUR	84

A. EINLEITUNG

Für die Humanmedizin zählt die Toxoplasmose nicht zu den wichtigsten Krankheiten des Menschen, besonders deshalb, weil sie nicht als Ursache für eine sehr gefährliche Seuche angesehen wird (BEATTIE, 1964). Dennoch ist diese Krankheit für die Medizin von großem Interesse, da sie überall in der Welt gefunden worden ist, wobei sie in warmen und feuchten Klimaten häufiger als in kühlen und trockenen Klimazonen auftritt (JACOBS, 1956/57). Auch ist die Toxoplasmose innerhalb verschiedener Bevölkerungsgruppen in ungewöhnlich hohem Ausmaß anzutreffen. Hierzu sei aber bemerkt, daß sie sich beim erwachsenen Menschen nur in seltenen Fällen klinisch manifestiert.

Nicht nur in der Humanmedizin, sondern vor allem auch in der Veterinärmedizin kommt der Toxoplasmose große Bedeutung zu, da die Infektion auch im Tierreich weit verbreitet ist. Aber auch für die Zoologie zählt der Erreger der Toxoplasmose mit zu den bedeutendsten Parasiten. Die Reihe der Tiere, bei denen eine Toxoplasma-Infektion nachgewiesen worden ist, reicht von den Kaltblütern (Schildkröten, JACOBS, 1956/57), über Vögel bis zu den Säugetieren. Wie hieraus hervorgeht, zeigt der Erreger der Toxoplasmose keine Wirtsspezifität.

Die Hauptschwierigkeiten für den Untersucher dürften darin liegen, daß der Parasit schwer aus seinen Wirten zu isolieren ist, da er nicht nur keine Wirtsspezifität, sondern in ein- und demselben Wirtskörper auch keine Organ- oder Gewebespezifität hat. Auch ist es bisher nicht möglich, ihn auf künstlichen Nährmedien zu züchten, so daß man bei Untersuchungen entweder auf Gewebekulturen oder lebende Versuchstiere angewiesen ist.

Obgleich die von Toxoplasmen hervorgerufene Krankheit heute in allen Teilen der Welt erforscht wird, konnten die Infektionsquellen und Übertragungsmöglichkeiten bisher noch nicht eindeutig geklärt werden, so daß geeignete Schritte

zur Verhinderung einer Infektion zur Zeit noch nicht unternommen werden können.

Man weiß heute, daß der Parasit diaplazentar übertragen werden kann. Da es aber relativ selten zu einer intrauterinen Infektion der Frucht kommt, erhebt sich auf Grund der ungewöhnlich weiten Verbreitung der Toxoplasmose bei Mensch und Tier die Frage, wie der Erreger postnatal in seinen Wirt gelangt und wo die Infektionsquellen zu suchen sind. Trotz zahlreicher Untersuchungen ist es bisher noch nicht gelungen, den Lebenszyklus des Parasiten aufzuklären. Da auch über die Art seiner Bewegung und Fortpflanzung Unklarheit besteht und widersprüchliche Angaben zu finden sind, ist seine Systematisierung bis heute ebenfalls problematisch.

Für die Übertragung der Toxoplasmose von Wirt zu Wirt eignen sich nicht alle Entwicklungsstadien (Trophozoit, Proliferationsform, Cyste, s.S. 5 ff) gleich gut. Auf Grund ihrer höheren Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse wird heute vor allem der Cystenform die größte Bedeutung für eine Übertragung der Krankheit zugesprochen. Die häufig berichtete Widerstandsfähigkeit der Cysten gegenüber den Verdauungssäften im Digestionstrakt läßt sie für eine per-os Übertragung von Wirt zu Wirt unter den Carnivoren als besonders gut geeignet erscheinen. Ob die Cysten außerhalb des Wirtsorganismus auf natürlichem Weg lebens- und infektiösfähig bleiben und ob sie mit Kot oder Urin ausgeschieden werden, ist bisher noch unbekannt.

Nachdem die Cysten von einem geeigneten Wirtstier z. B. mit der Nahrung aufgenommen worden sind, taucht die Frage auf, in welchem Teil des Verdauungstraktes ihre Membranen aufgelöst werden und von welcher Stelle aus die freigewordenen Einzelparasiten den Wirtskörper überschwemmen. Außerdem müßte festgestellt werden, in welchem Zeitraum diese Ausbreitung im Organismus erfolgt.

Mit den Untersuchungen, die ich im Rahmen dieser Arbeit vorlege, habe ich zur Klärung dieser Fragen beitragen wollen. Die Arbeit wurde in der Abteilung Tropenmedizin und Parasiti-

tologie des Robert-Koch-Institutes in Berlin durchgeführt. Herrn Professor Dr. med. Georg Henneberg, dem Leiter des Robert-Koch-Institutes, danke ich sehr herzlich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes, weiterhin Herrn Dr. rer. nat. Hans Werner für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung des experimentellen Teiles meiner Arbeit. Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. phil. Fritz Peus, Direktor des Institutes für Angewandte Zoologie der Freien Universität Berlin, möchte ich an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank für seine großzügigen Hilfen in jeglicher Hinsicht aussprechen. Mein Dank gilt ferner der medizinisch-technischen Assistentin, Fräulein Christa Meisel, die mich in der Technik des SABIN-FELDMAN-Testes unterwiesen und mir wertvolle Hinweise zur Methodik einiger Versuche gegeben hat. Der Studienstiftung des deutschen Volkes danke ich für die Gewährung eines Doktorandenstipendiums.

B. ERGEBNISSE DER TOXOPLASMOSEFORSCHUNG

Bevor ich meine Untersuchungen beschreibe, soll zur Erläuterung der eigenen Experimente ein kurzer Überblick über einige Ergebnisse der bisherigen Toxoplasmosenforschung gegeben werden.

I. E r f o r s c h u n g s g e s c h i c h t e

Es ist möglich, daß der Erreger der Toxoplasmosse bereits 1900 von LAVERAN in einem javanischen Reisfinken (*P a d d a o r y z i v o r a*) gefunden worden ist, aber die Beschreibung des Parasiten durch LAVERAN ist zu unzulänglich, als daß sie genauere Aussagen darüber zuließe.

Die eigentliche Entdeckungsgeschichte der Toxoplasmosse begann 1908, als NICOLLE & MANCEAUX in den mononuclearen Zellen der Milz und Leber des Gundi (*C t e n o d a c t y l u s g o n d i i*, PALLAS, 1778), eines nordafrikanischen Nagetieres, einen Parasiten beobachteten, den sie zunächst auf Grund seiner Ähnlichkeit mit der Leishmania-Form " *Leishmania gondii* " nannten. Da sie kein Centrosom entdecken konnten, schlugen sie jedoch 1909 auf Grund der äußeren Morphologie des Parasiten den Namen *To x o p l a s m a g o n d i i* vor (griechisch Toxon = Bogen, s.S. 5). NICOLLE & MANCEAUX wiesen in ihrer Arbeit von 1909 auf die übereinstimmende, morphologische Identität des im Gundi beobachteten Parasiten mit dem hin, den SPLENDRE ebenfalls 1908 in einem Kaminchen in Brasilien gefunden hatte.

In den auf die Entdeckung des *To x o p l a s m a g o n d i i* folgenden Jahren wurde der Parasit in sehr vielen Tieren gefunden und aus den verschiedensten Geweben beschrieben. Dabei glaubte man, daß es sich in jeder Wirtsart um eine eigene Toxoplasma-Art handeln müsse, die daher nach dem jeweiligen Wirtstier als *species propria* beschrieben wurde.

Viele Autoren vermuteten jedoch schon auf Grund ihrer Beobachtungen, daß es sich bei allen den bisher gefundenen

Arten nur um ein- und dieselbe Art handele (LAVERAN, 1913; MESNIL, 1918; NICOLAU et al., 1935). Diese Auffassung konnte SABIN (1939) auf Grund von immunbiologischen Untersuchungen bestätigen. Bisher wurde also nur eine Art gefunden, das *Toxoplasma gondii*, von der man heute viele Stämme unterscheidet. SABIN & OLITSKY (1937) nehmen an, daß die Unterschiede in den Stämmen auf eine Adaptation der Parasiten an ihre verschiedenen Wirte zurückzuführen sind.

JANKU (1923) beschrieb einen Parasiten, den er in der Retina eines Kleinkindes gefunden hatte und der später von LEVADITI et al. (1928) als *Toxoplasma* identifiziert wurde. Der erste Parasitenbefund beim Menschen dürfte allerdings von CASTELLANI (1914) beschrieben worden sein, der jedoch den von ihm gefundenen Erreger noch nicht als *Toxoplasma gondii* identifizieren konnte, aber seine Verwandtschaft zu den Toxoplasmen bereits erkannte.

II. Morphologie und Biologie

Der Einzelparasit zeigt immer dieselbe äußere Gestalt und stellt das freiliegende, vegetative Stadium dar. Er ist ein halbmond- oder bogenförmiger Organismus, der 2-4 μ breit und 4-7 μ lang ist. Der Zelleib besitzt zwei Pole; der hintere endet mit einer stumpfen Spitze, der vordere ist kegelförmig ausgebildet. Der Gipfel des kegelförmigen Poles endet mit einem konischen Ring ("conoid" nach GUSTAFSON, 1954). Der Pol wird durch sog. Rippenfäden gefestigt, die strahlenartig vom konischen, kraterähnlichen Ring auseinanderlaufen. Die Rippenfäden liegen in der Pellikula. Von der Basis des konischen Ringes läuft in die Zelle zentralwärts ein Bündel keulenförmiger Fäden, die unterschiedlich lang sind und deren Anzahl veränderlich ist, meist 16 ("toxonemes" nach GUSTAFSON, 1954). Die sonst doppelschichtige Pellikula wird am Apex des Conoid einschichtig. Es wurden tubuläre Mitochondrien und der Golgi-Apparat nachgewiesen, der in nächster Nähe des Kerns liegt. Die Toxonemen scheinen sekretorische Funktion zu

haben und Toxine und Enzyme durch das Conoid auszuscheiden (GUSTAFSON, 1954; LUDVIK, 1963 b).

Nach FULTON und SPOONER (1960) nutzt der Parasit Glucose und Sauerstoff und produziert CO_2 , Lactat, Essigsäure und eine noch nicht identifizierte Säure als Stoffwechselprodukt der Glucose. Er oxydiert reduziertes NAD und besitzt ein Cytochromsystem und Katalase. Da die Parasiten in vitro keine endogene Atmung zeigen, scheinen sie von den Reserven der Wirtszellen abhängig zu sein.

Freilebende Toxoplasmen findet man also nur vorübergehend, meist in Körperflüssigkeiten wie Lymphe, Blut, Liquor und Ascites, besonders aber im Peritonealexsudat von experimentell infizierten Laboratoriumstieren. Da das Toxoplasma ein obligatorisch intrazellulärer Parasit ist (SABIN & OLITSKY, 1937), zeigt er immer die Tendenz in eine Wirtszelle einzudringen, um sich dort zu vermehren.

Bisher ist wenig über den Mechanismus bekannt, nach dem die Toxoplasmen in die Wirtszellen eindringen. Allgemein wird angenommen, daß sie mit ihren Polorganellen die Wirtszellmembran perforieren, wobei die Parasiten langsame, gleitende Bewegungen (ähnlich der der Gregarinen) ausführen. Der konische Pol mit den Fibrillen scheint der Motor der Bewegung zu sein (LUDVIK, 1956). Bisher sind nie Pseudopodien, Filopodien oder andere Bewegungsorganelle gesehen worden. Nur SPLENDORE (1913), CROSS (1947) und WESTPHAL (1954) haben begeißelte Formen beschrieben. Diese Angaben sind aber bisher noch nicht bestätigt worden.

Die Parasiten gelangen aber auch ohne ein äußeres Anzeichen von Bewegung in die Wirtszellen. Man vermutet daher auch, daß die Zellen die Toxoplasmen entweder phagocytieren oder daß eine enzymatische Aktivität der Parasiten beim Eindringen eine Rolle spielt. Versuche von LYCKE (1965) an Gewebekulturen ergaben, daß ein Zusatz von Hyaluronidase und Lysozym eine stark synergistische, fördernde Wirkung auf das Eindringvermögen der Toxoplasmen in die Wirtszelle hatte. Diese synergistische Wirkung soll wahrscheinlich

auf einer spaltenden Wirkung der beiden Enzyme auf die Mucopolysaccharide beruhen, die in der Wirtszellwand oder in den Interzellularen vorhanden sind.

Die Wirtszelle umgibt den in ihr befindlichen Parasiten als Abwehrreaktion mit einer Membran. Die Toxoplasmen sind dann also in einer Vakuole eingeschlossen (LUDVIK, 1963 c). In dieser Vakuole beginnt sich der Parasit zu teilen. Dadurch wird die Wirtszelle ausgedehnt. Es kommt zur Bildung der sog. Pseudocyste; Pseudocyste daher, weil die Hülle kein eigenes Produkt des Parasiten ist, wie es für den Begriff "Cyste" zu fordern ist. Aus diesem Grund hat man in jüngster Zeit für den Namen "Pseudocyste" den Begriff der "Proliferationsform" vorgeschlagen (KIRCHHOFF et al., 1966). Da aber bisher in der gesamten älteren Literatur der Ausdruck Pseudocyste gebraucht wurde, habe auch ich ihn in der vorliegenden Arbeit weiterhin benutzt.

Die Toxoplasmen vermehren sich einerseits durch einfache Zweiteilung, andererseits durch die sog. "endodyogeny", wie sie zuerst von GOLDMAN et al. (1958) beschrieben worden ist. Unter dieser "inneren Knospung" versteht man die Entstehung zweier neuer Tochterzellen aus einer Mutterzelle, wobei die Mutterzelle erst dann zerfällt, wenn die Tochterzellen alle Organellen und ihre Membran ausgebildet haben. Dies wurde durch elektronenoptische Untersuchungen von GAVIN (1962), OLISA (1963) und LUDVIK (1963 b) bestätigt. GAVIN beobachtete außerdem Rosettenbildungen als dritten Teilungsmodus.

Eine Vermehrung durch Endodyogenie und Rosettenbildung wird aber auch von mehreren Autoren bestritten (HOGAN et al., 1960; ZASSUKHIN, 1963). Sie deuten diese Befunde als Artefakte, die durch die Art der Behandlung der Untersuchungsobjekte bedingt sind. Vor allem AKINSHINA (1964) beobachtete an lebenden Organismen nur Längsteilung, wobei es zur mitotischen Teilung des Kerns und zur Bildung von zwei Tochterkernen kommt. Diese Befunde sind durch Paralleluntersuchungen an gefärbtem und fixiertem Material bestätigt worden. Auch HOLZ (1954) konnte durch Anwendung des Mitose-

giftes Colchicin auf mit Toxoplasmen infizierte Mäuse feststellen, daß sich *Toxoplasma gondii* mitotisch teilt, 6 Chromosomen hat und sich durch Längsteilung vermehrt.

Im Durchschnitt enthält die Pseudocyste 10-15 Einzelindividuen. Ihre Zahl kann aber auch erheblich größer sein. Danach zerfällt die Wirtszelle, und die freiwerdenden Parasiten haben die Möglichkeit, neue Zellen zu befallen, jedoch findet man daneben gelegentlich auch freie Parasiten intrazellulär im Gewebe der Wirtstiere, hier vor allem in Leber und Milz. Das Stadium der Pseudocyste ist zeitlich eng begrenzt und stellt kein echtes Dauerstadium dar.

Wenn sich der mit Toxoplasma infizierte Organismus durch Bildung einer genügenden Menge von Antikörpern der Parasiten erwehren kann, wird diesen dadurch die Möglichkeit genommen, sich normal intrazellulär in allen Geweben zu vermehren und den Wirtskörper zu überschwemmen. Die Toxoplasmen bilden dann vor allem in den von Antikörpern fast freien Geweben, wie Hirn und Augen Cysten, in denen sich dann ebenfalls eine Vermehrung, wahrscheinlich nur durch Zweiteilung (KIKKAWA et al., 1964) vollzieht; dies geht deutlich aus dem Wachstum der Cysten hervor. Mit der Cystenbildung geht das akute Stadium der Krankheit in den Zustand der chronischen bzw. latenten Phase über (LAINSON, 1958).

Die Cysten sind runde bis oval geformte Gebilde von kugelförmiger Gestalt mit einer festen, aber elastischen Hülle. Sie haben meist einen Durchmesser von 60-100 μ (LAINSON, 1958), können aber erheblich größer werden (nach STRASSMANN, 1964 bis zu 250 μ). Dann können sie mehrere Tausend Einzelparasiten beherbergen. Die Cystenwand ist mehr ein Produkt einer Wechselwirkung des Parasiten und des Wirtes als des Parasiten allein (KIKKAWA et al., 1964; MATSUBAYASHI et al., 1966). Im Gegensatz zur Pseudocyste ist die Hülle der echten Cyste jedoch völlig unabhängig von der Membran der Wirtszelle (WANKE et al., 1962).

LEPINE (1929) stellte als erster fest, daß die Toxoplasmen in den Geweben der Versuchstiere über längere Zeiträume infektiös bleiben können. Heute weiß man, daß die Toxoplasmen in den Cysten offenbar mehrere Jahre lang infektiösfähig bleiben, daß sie also echte Dauerformen sind.

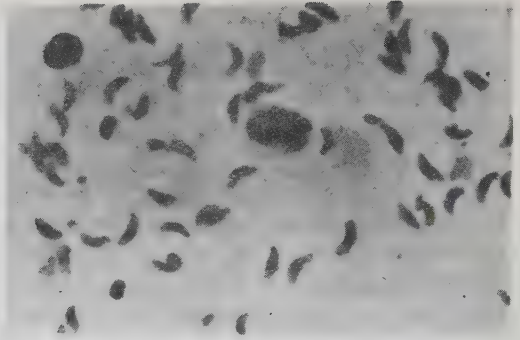
In der älteren Literatur ist eine gewisse Verwirrung in der Bezeichnung der einzelnen Entwicklungsstadien aufgetreten, da viele Autoren die im Hirn gefundenen Dauerstadien ebenfalls als "Pseudocysten" bezeichnet haben. Sie sahen nämlich die Cystenwand als Restmembran der von den Parasiten befallenen Wirtszelle an. Um anzudeuten, daß sich auch die Parasiten in den Cysten teilen, wird neuerdings für den sich wesentlich schneller teilenden Parasiten der akuten Infektion der Begriff "Trophozoit" verwendet.

Die Cysten liegen nicht völlig inaktiv im Gewebe, obgleich sie nur sehr selten eine Reaktion in den sie umgebenden Zellen hervorrufen. Über das Wachstum der Cysten gibt es zweierlei Auffassungen. FRENKEL (1951) meint, daß die Cysten platzen, die freigewordenen Parasiten in benachbarte Zellen eindringen und neue Cysten bilden. LAINSON (1958) und vor allem VAN DER WAALJ (1959) glauben dagegen, daß einzelne Parasiten die Cysten verlassen und sich neu enzystieren. Außerdem könnten auch vereinzelte Trophozoite länger als gewöhnlich in den Wirtszellen bleiben und später neue Cysten bilden.

Die Cysten können aber auch völlig in Ruhe bleiben, was aus der Tatsache hervorgeht, daß ihr Vorhandensein nicht die Aufrechterhaltung hoher Antikörpermengen stimuliert (REMINGTON et al., 1960; s.S. 55).

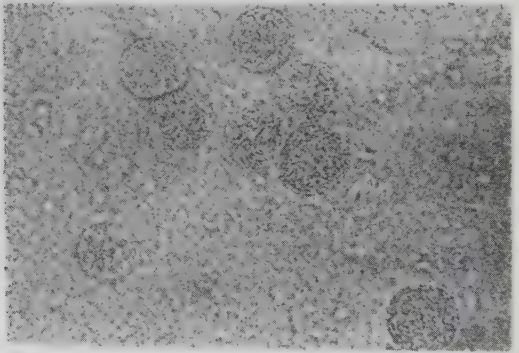
Die Einzelparasiten in den Cysten scheinen nach neueren elektronenoptischen Untersuchungen (GARNHAM et al., 1962) die gleiche Morphologie und Ausbildung der Organellen wie die Trophozoite zu haben (s.S. 5 ff); sie sind jedoch nicht mit diesen identisch (KIRSCHHOFF et al., 1966).

Abbildung 1:



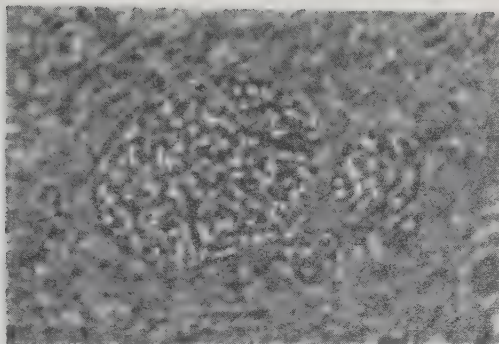
Trophozoite und Proliferationsform (Pseudocyste)
aus dem Peritonealexsudat einer infizierten weißen
Maus. Toxoplasma-Stamm Bk. Färbung: Giemsa
Vergrößerung: 900-fach

Abbildung 2:



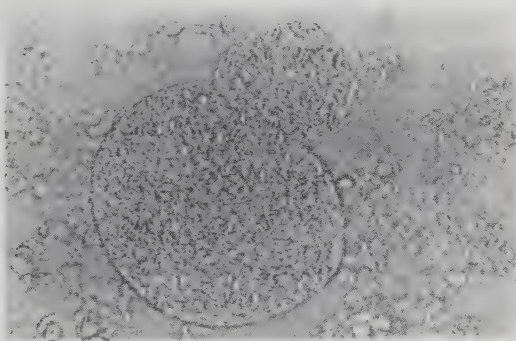
Mehrere dicht beieinanderliegende Toxoplasma-
Cysten aus einem Mäusehirn. Toxoplasma-Stamm ALT.
Unfixiertes Frischpräparat; Vergrößerung: 180 - fach.

Abbildung 3:



Große und kleine Cysten aus einem Mäusehirn.
Toxoplasma-Stamm ALT; unfixiertes Frischpräparat;
Vergrößerung: 900-fach.

Abbildung 4:



Platzende oder einen Teil abschnürende Cyste aus
einem Mäusehirn. Bildung einer neuen Cyste (?).
Unfixiertes Frischpräparat; Vergrößerung: 375-fach.

III. Stellung im System

Wie schon erwähnt, ist es bis heute noch nicht gelungen, die Toxoplasmen richtig zu systematisieren. Zur Zeit herrscht allerdings die Neigung vor, sie zu den Sporozoa zu stellen. Diese Annahme gründet sich vor allem auf morphologische Ähnlichkeiten mit den Merozoitenstadien der Coccidien (SCHOLTYSECK & PIEKARSKI, 1965). Außerdem könnte man die Endodyogenie und Rosettenbildung als eine spezielle Form der Schizogonie interpretieren. Bei der Endodyogenie würden jeweils nur zwei Merozoite entstehen, während bei dem Rosettenstadium ein vielkerniges Toxoplasma vorliegt, in dem schon Vorläufer der neuen Individuen vorgebildet sind. Das Auftreten einer echten Schizogonie, wie sie von CHATTON & BLANC (1917) beschrieben worden ist, konnte von anderen Autoren nicht bestätigt werden.

Wenn das *Toxoplasma gondii* wirklich zu den Sporozoa gehören sollte, so wäre es, soweit bisher bekannt, das einzige Sporozoum ohne engere Wirtsspezifität. Das endgültige Kriterium einer Einordnung der Toxoplasmen zu den Sporozoa würde der Nachweis einer Sexualität (Gamogonie) sein, der bisher aber noch nicht erbracht werden konnte. Aus diesem Grunde fordern BIOCCA (1956) und CHEISSIN (1965), das Toxoplasma mit *Besnoitia* und *Sarcocystis* in eine eigene Klasse "Toxoplasmatea" zu stellen.

IV. Connatale Übertragung

Ogleich JANKU (1923) einer Toxoplasma-Fund beim Menschen beschrieb, spielt der Parasit erst seit dem Jahre 1937 für die Humanmedizin eine Rolle. WOLF & COWEN berichteten in diesem Jahr über einen Fall von kongenitaler, granulomatöser Encephalitis. Durch Tierversuche mit Meerschweinchen konnte gezeigt werden, daß es sich bei dem Erreger um das Toxoplasma handelte. In den folgenden Jahren wurden von denselben Autoren mehrere Arbeiten über "congenitale" Toxoplasmose veröffentlicht.

Die Toxoplasmose schien zunächst, abgesehen von dem nicht gesicherten Befund von CASTELLANI (1914), nur eine Krankheit bei Säuglingen im Sinne einer intrauterin erworbenen Infektion zu sein.

Bis heute ist der diaplazentare Übergang der Toxoplasmen von der Mutter auf den Foetus - sowohl beim Menschen, als auch bei Tieren - der einzig sicher erkannte, natürliche Übertragungsweg. Er wurde bereits 1939 von WOLF und Mitarbeitern durch Tierversuche bewiesen. In den folgenden Jahren wurde er von vielen anderen Autoren bestätigt, denen ebenfalls eine congenitale Übertragung in Tierexperimenten gelang (EICHENWALD, 1948; WERNER, 1960 a,b,c; JACOBS, 1961; NAKAYAMA et al., 1961; WERNER, 1963 c; u.a.).

V. P o s t n a t a l e Ü b e r t r a g u n g

PINKERTON & WEINMAN (1940) zeigten als erste an Hand einer tödlich verlaufenen Krankheit bei einem jungen Mann, daß sich der Mensch auch in seinem späteren Leben mit Toxoplasmen infizieren kann. Aber erst 1951 gelang es GARD & MAGNUSSON durch eine Lymphknotentoxoplasmose zu beweisen, daß die erworbene Toxoplasmose nicht immer einen tödlichen Verlauf für den Menschen zu haben braucht und sich weit weniger gefährlich oder gar nicht manifestieren kann.

Seitdem 1948 SABIN & FELDMAN mit dem Toxoplasma-Farbstest (Genauerer s.S. 32ff) eine Methode geliefert haben, mit der man leicht eine größere Anzahl von Menschen und Tieren untersuchen kann, zeigte es sich, daß Toxoplasma-Infektionen beim Menschen viel häufiger sind, als zuvor vermutet wurde. In Mitteleuropa können etwa 30-50 % der Bevölkerung als infiziert angesehen werden, wobei die Erkrankungen relativ gering sind. Der prozentuale Anteil der Toxoplasmaträger steigt mit zunehmendem Lebensalter und kann in Extremfällen bei einem Alter von über 60 Jahren fast 100% erreichen (z.B. in Polynesien).

Die hohen Durchseuchungsziffern unter der Bevölkerung haben anfänglich Zweifel an der Spezifität des SABIN-FELDMAN-Testes und anderer serologischer Nachweismethoden für die Toxoplasmose (z.B. Komplementbindungsreaktion nach WARREN & RUSS, 1948) aufkommen lassen, da der mikroskopische Nachweis des Erregers nur selten gelungen ist (AWAD, 1954). Systematische Untersuchungen in den letzten Jahren haben aber keine Anhaltspunkte dafür ergeben, daß in den serologischen Nachweismethoden positive Kreuzreaktionen mit Antikörpern eines anderen Erregers auftreten (BEATTIE, 1957; WEINMAN & CHANDLER, 1960; SCHMIDTKE, 1963; BEATTIE, 1964; u.a.).

In letzter Zeit gelingt auch der histologische Nachweis des Erregers immer häufiger, mit dem dann die serologischen Befunde bestätigt werden (JOSEPH et al., 1957; ERIKSSON et al., 1959; KIKKAWA et al., 1964; u.a.). Außerdem hat der Parasit in zunehmendem Maße durch Tierversuche isoliert werden können (ALEXANDER, 1955; DESMONTS et al., 1957; COUVREUR et al., 1961; nach 1961 ist die Isolation recht häufig gelungen).

1. Indirekte Übertragung

a. durch blutsaugende Arthropoden

Nach CHATTON & BLANC (1917) soll sich der sexuelle Fortpflanzungszyklus der Toxoplasmen in einem Insekt abspielen. Da die Parasiten wenigstens vorübergehend im peripheren Blut oder in der Lymphe auftreten, könnte die Möglichkeit bestehen, daß ein Blutsauger sie beim Saugakt (Stechakt) aufnimmt und so auf einen anderen Wirt überträgt. Diese Übertragungsmöglichkeit wurde vor allem für Herbivoren angenommen.

Verschiedene Autoren konnten tatsächlich nachweisen, daß die Toxoplasmen von Insekten (z.B. Flöhe, Wanzen, Mücken), von Zecken und Milben aufgenommen werden und in ihnen teilweise über längere Zeit lebensfähig sind. Es gelang den Untersuchern, gesunde Versuchstiere zu infizieren, wenn sie ihnen die Insekten peroral oder parenteral appli-

zierten (BLANC et al., 1950; LAVEN & WESTPHAL, 1950; NUSSENWEIG & DEANE, 1958; VARELA, 1961; PESTRE et al., 1962/63). Allen diesen Autoren gelang es aber nie, die Toxoplasmen durch Stiche oder Bisse infizierter Insekten zu übertragen.

Dem stehen Versuche von WOKE und Mitarbeitern (1953) ebenfalls an blutsaugenden Arthropoden gegenüber, die sie vorher mit Toxoplasmen infiziert und an verschiedenste Laboratoriumstiere verfüttert hatten. Durch diese Methode konnten die Autoren die Toxoplasmen auf empfängliche Wirte übertragen. Ihnen gelang aber auch in einigen Fällen die Übertragung, wenn sie die bereits infizierten Insekten an gesunden Versuchstieren (Kaninchen) weitersaugen ließen. Diese Erfolge erzielten sie mit drei Zeckenarten und der Laus *Pediculus humanus corporis*.

Wie aus den Versuchen zu ersehen ist, konnte bisher die Annahme von CHATTON & BLANC nicht bestätigt werden. Es ist überhaupt fraglich, ob die Übertragung der Toxoplasmen durch Stechen von Insekten, Zecken und Milben auf den Menschen oder ein anderes Wirtstier epidemiologisch irgendeine Bedeutung hat.

Allerdings geht aus den Befunden hervor, daß mindestens eine mechanische Übertragung des Erregers durch Blutsauger nicht ganz auszuschließen ist, da es bei Tieren allgemein üblich ist, daß sie sich ihrer Ektoparasiten durch Zerbeißen entledigen. Die Übertragung würde dann phagär erfolgen. Auf diese Übertragungsmöglichkeit haben bereits LAVEN & WESTPHAL (1950) hingewiesen.

2. Direkte Übertragung

Die unter diesem Punkt aufgeführten eventuellen Übertragungsmöglichkeiten lassen sich eigentlich nicht scharf trennen, da oft bei berichteten Krankheitsfällen sowohl an eine Übertragung des Erregers durch Schmutz- und Schmierinfektion, als auch an eine perorale Parasitenaufnahme zu

denken ist.

Wie bereits erwähnt, ist die Durchseuchung der Bevölkerung erstaunlich hoch, die Toxoplasmen zählen also zu den häufigsten Parasiten des Menschen.

In mehreren Untersuchungen hat es sich ergeben, daß die Landbevölkerung im SABIN-FELDMAN-Test häufiger positiv reagiert als die Stadtbevölkerung (dieses Ergebnis konnte allerdings nicht generell bestätigt werden). Außerdem hat man festgestellt, daß Menschen, die beruflich oder aus anderen Gründen einen nahen Umgang mit Tieren aufweisen, wie Tierpfleger, Zoowärter und Schlachthauspersonal häufig serologisch positiv sind (HILGENFELD, 1963). Man führt den höheren Befall dieser Bevölkerungsgruppen auf ihren engen Kontakt mit Tieren zurück. Die Toxoplasmen können gerade in Haus- und Nutztieren häufig nachgewiesen werden. Man sieht diese Tiere besonders deshalb als Reservoir für den Menschen an, weil sie meist latent infiziert sind. Vor allem wird angenommen, daß eine Infektion durch Hunde (WESTPHAL et al., 1950) und Katzen eine große Rolle spielt, da diese Tiere meistens am engsten mit den Menschen zusammenleben und sehr häufig Toxoplasma-Träger sind. Gegen diese Auffassung wenden sich aber mehrere Autoren (FRITZ, 1951; SIMIC et al., 1958/59 a; s.S. 25). Auch BOCH & ROMMEL (1963) können keine Angaben darüber machen, ob latent infizierte Hunde den Menschen anstecken können oder nicht, da sie experimentell nie eine Kontaktübertragung (auch bei Mäusen und Schweinen nicht) durch latent infizierte Tiere beobachten konnten.

Ebenso können HARBOE et al. (1954) und SIMIC und Mitarbeiter (1964 a) die Annahme von GEISSLER (1955) und KIMPALL et al. (1960) nicht bestätigen, wonach auch das Hausgeflügel eine bedeutsame Infektionsquelle für den Menschen sein soll, obgleich über Spontan-toxoplasmosen in Geflügelzuchtanstalten bereits berichtet worden ist.

Es sprechen also einige Beobachtungen dafür, daß die Gefährdung des Menschen durch scheinbar gesunde, aber latent

infizierte Tiere öfter Übertrieben worden ist, wenn auch die Möglichkeit einer Ansteckung durch solche Tiere nicht generell verneint werden darf.

Eine größere Gefahr für den Menschen dürfte die Tatsache sein, daß besonders an akuter Toxoplasmose erkrankte Tiere den Erreger mit Sekreten und eventuell Exkrementen ausscheiden können, die der Mensch oder ein anderer Wirt dann entweder durch orale oder Schmutz- und Schmierinfektion aufnehmen kann.

a. durch Schmutz- und Schmierinfektion

Bisher ist es mehreren Autoren gelungen (ADAMS et al., 1949; RIFAAT et al., 1962; DE ROEVER-BONNET, 1963; SHEVKUNOVA et al., 1963 a; HILGENFELD, 1964), den Erreger im Kot und Urin von Tieren nachzuweisen, die an einer generalisierten, also den gesamten Wirtskörper erfassenden, akuten Toxoplasmose erkrankt waren. Die Tiere sind hierbei meist experimentell (jedoch nicht oral) infiziert worden. Nach SCHMIDTKE (1954 a) mußten die Parasiten auf direktem Weg in das Rectum und die Harnblase eingedrungen sein (dazu auch Versuche von RIFAAT et al., 1962), um virulent mit dem Harn und Kot ausgeschieden werden zu können. VARELA (1961) infizierte seine Versuchstiere erfolgreich, als er ihnen Kot von Stubenfliegen verabreichte, die vorher Toxoplasmen aufgenommen hatten.

Ob aber eine Ausscheidung durch die Fäkalien bei an einer akuten Toxoplasmose erkrankten Tieren in der Regel stattfindet, ist auf Grund der bisherigen Erfahrungen recht unwahrscheinlich (SABIN & OLITSKY, 1937; MANWELL et al., 1945; JACOBS et al., 1950; KASS, 1952; DE RODANICHE, 1954; NUSSENWEIG & DEANE, 1958; SHEVKUNOVA et al., 1963 b), wenn sie auch von HUTCHISON (1965) gerade in der letzten Zeit sogar für latent infizierte (nach oraler Infektion) Wirte bejaht wird, allerdings nur unter der Bedingung, daß sie zusätzlich mit "Würmern" infiziert sind (Genauerer s.S.24+79). In welchem Umfang und auf welche Art und Weise dann eine Übertragung durch den Kot und Urin möglich ist, bliebe weiterhin zu klären.

Da die Toxoplasmen in den Alveolen und Bronchiolen der Lunge (LAINSON, 1958; VAN DER WAAIJ, 1959) gefunden worden sind und nach HILGENFELD (1964) auch mit dem Bronchialexsudat ausgeschieden werden können, könnten sie von einem neuen Wirt aufgenommen werden und durch Eindringen in die Atmungswege in ihm eine Infektion hervorrufen.

Auch der Infektionsweg über die Nasen- und Rachenschleimhäute und Augenbindehäute wird diskutiert (ERAZ, 1959; SHEVKUNOVA, 1963 b), da die Erreger in Nasen- und Rachenabstrichen (KASS, 1952; SCHMIDTKE, 1954 b, 1955), sowie Nasen- (LAVERAN, 1913; HILGENFELD, 1964) und Augensekreten (MESNIL, 1913; LAVERAN, 1913) der Wirtstiere nachgewiesen worden sind. Dabei sollen allgemein kleine Verletzungen in den Schleimhäuten den Parasiten das Eindringen wesentlich erleichtern (HOLZ & BRINGMANN, 1953; SCHMIDTKE, 1956; SHEVKUNOVA, 1953 b; HILGENFELD, 1964). Diese Auffassung können SMETANA und sein Mitarbeiter (1962) auf Grund ihrer experimentellen Ergebnisse allerdings nicht teilen.

Die größte Bedeutung für die Übertragung der Toxoplasmen wird aber heute dem oralen Infektionsweg beigemessen, wobei allerdings Schmierinfektionen, sofern sie bei der Aufnahme von infiziertem Futter über die Nasenschleimhäute stattfinden, nicht von echten per os bedingten Infektionen zu trennen sind.

b. durch orale Infektion

Die hier aufgeführten Beispiele für eine orale Infektion lassen die Möglichkeit unberücksichtigt, daß die Parasiten schon im Bereich oberhalb des Magens durch Schleimhäute in den Wirtskörper gelangen könnten (Mundhöhle, Rachen, Speiseröhre) und nicht erst die Schleimhäute des Magens und Darms durchdringen müßten, um von hier aus eine Invasion hervorzurufen. Diese Möglichkeit ist immer bei natürlicher Nahrungsaufnahme gegeben.

Hierzu sei allerdings gesagt, daß die Nahrung und in ihr die Parasiten wohl in den seltensten Fällen so lange gerade in dem Mund- und Rachenraum bleibt und hier so gut aufgeschlossen wird, als daß die eben genannte Möglichkeit in der Natur oft verwirklicht wäre. Auch MRAZ (1959) kommt auf Grund seiner Versuchsergebnisse zu der Überzeugung, daß die Bedeutung des oberen Verdauungstraktes für das Eindringen der Toxoplasmen in den Wirt nur sehr gering ist, ganz auszuschließen sei sie allerdings nicht.

Über die vielen Versuche einer experimentellen oralen Infektion soll im nächsten Kapitel noch näher eingegangen werden. Hier sei nur bemerkt, daß man gerade den oralen Infektionsweg als denjenigen ansieht, der bei den Carnivoren am häufigsten verwirklicht ist. Wie sich dagegen die Herbivoren infizieren können, ist bis heute noch ungeklärt.

SANGER & COLE (1955) wiesen im Kolostrum von Säuen freie Einzelparasiten der Toxoplasmen nach. Sie nehmen daher an, daß sich die Ferkel nach der Geburt durch die Muttermilch infizieren können. Auch HILGENFELD (1964) fand die Erreger in der Milch von an einer Spontantoxoplasmose verendeten Bennett- und roten Riesenkänguruhs. EICHENWALD (1948) gelang es, die Toxoplasmen durch die Muttermilch auf junge Mäuse zu übertragen. Ebenso erfolgreich infizierten LAVEN & WESTPHAL (1950) junge Ratten, indem sie ihnen Milch von infizierten Muttertieren zu trinken gaben. COWEN & WOLF (1950) dagegen konnten die Ergebnisse der eben genannten Autoren nicht bestätigen.

Bei neugeborenen oder noch sehr jungen Tieren scheinen besondere Verhältnisse vorzuliegen. Nach REMINGTON (1961) können die Jungtiere die freien Formen der Toxoplasmen aus der Milch nur in den ersten Tagen nach der Geburt aufnehmen, weil der Gehalt an Magensäure und Verdauungsfermenten bei ihnen noch sehr niedrig ist und sie möglicherweise erst nach einiger Zeit genügend viele Antikörper mit der Milch gegen die Erreger von der Mutter aufgenommen haben (vergleiche hierzu auch die Versuche von TIMIG et al., 1958, 1959; s.S.25ff).

Bei Carnivoren können Toxoplasmen leicht durch Kannibalismus übertragen werden (LAINSON, 1954; NAKAYAMA et al., 1961; u.a.; s. S. 28). Unter günstigen äußeren Bedingungen bleiben die Erreger in den Kadavern der Wirtstiere lange infektiösfähig (MENNIE, 1913; LAINSON, 1954; JACOBS et al., 1960 a; u.a.). Aus diesem Grund nehmen WEINMAN & CHANDLER (1954; 1956; 1960) und mehrere andere Autoren (BEATTIE, 1957; COUVREUR et al., 1961; u.a.) an, daß sich der Mensch durch den Genuß von ungenügend gekochtem bzw. rohem Fleisch infizieren kann, da die Toxoplasmen gut bis zu 30 Tagen die Gefrierhausbedingungen überleben und infektiösfähig bleiben. Durchschnittlich liegt aber zwischen dem Töten und Verbrauch des Schlachtviehs nur eine viertägige Aufenthaltsdauer in Kühlräumen und Verkaufshallen. Durch die Feststellung, daß die Muskulatur und die inneren Organe vor allem von Schweinen (JACOBS et al., 1957 a; 1960 a; WEISS, 1962; STÖRMANN, 1962; BOCH et al., 1964) und Schafen (GARRHAM et al., 1960; JACOBS et al., 1960 a), aber auch von Rindern (JACOBS et al., 1960 a; GUILLIO et al., 1960; PANDE et al., 1961) Toxoplasmen beherbergen können, wurde die Annahme von WEINMAN & CHANDLER unterstützt. Sie **stellten außerdem fest**, daß Blutseren von Menschen, die eine Trichinose hatten - also häufig rohes Schweinefleisch gegessen haben mußten -, viel häufiger und stärker positiv im SABIN-FELDMAN-Test waren als Seren der Normalbevölkerung.

VI. Experimentelle, orale Infektion mit Toxoplasma gondii

Da bis heute einerseits noch kein natürlicher Infektionsweg, abgesehen von dem congenitalen, wirklich sicher bewiesen werden konnte, andererseits aber gerade dem oralen eine große Bedeutung zugesprochen wird, ist die per-oral-Infektion sehr häufig untersucht worden. Von einer peroralen Infektion im engeren Sinne wird von den Untersuchern meist nur dann gesprochen, wenn die Parasiten erst vom Magen oder Darm aus in den Körper eindringen.

Da man in der Literatur sehr widersprechende Angaben über den Erfolg oder Mißerfolg von Fütterungsversuchen findet, scheinen sich, wie in der Einleitung bereits festgestellt wurde, nicht alle Entwicklungsstadien des Parasiten für eine orale Infektion gleich gut zu eignen. Sie zeigen offensichtlich eine unterschiedliche Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse. Vor allem erhebt sich auf Grund einer oralen Infektion die Frage, ob die einzelnen Entwicklungsformen überhaupt der Einwirkung der Magensäure und der Verdauungsfermente des Darms standzuhalten vermögen, und ob sich zwischen ihnen Unterschiede aufzeigen lassen.

Bei in-vitro-Versuchen am Einzelparasiten, an den Pseudocysten und Cysten ist festgestellt worden, daß die beiden erstgenannten eine viel geringere Widerstandsfähigkeit gegen äußere Einflüsse haben als die Cysten (JACOBS et al., 1957 b; 1960 b; LAINSON, 1954). Schon aus diesem Grund scheinen die Trophozoite und Pseudocysten für eine orale Infektion, bei der für den Parasiten ungünstige Bedingungen überwunden werden müssen, nicht so gut geeignet zu sein wie die Cysten. Weiter geht aus in-vitro-Experimenten von einigen Autoren (HOLZ & BRINGMANN, 1953; JACOBS, 1953; SCHMIDTKE, 1954 a; NAKAJYO et al., 1956; WILDFÜHR, 1956/57) hervor, daß die vegetativen Formen sehr schnell durch Magensäfte oder ein dem Magensaft entsprechendes, künstliches HCl-Pepsin-Milieu abgetötet werden. Die verdauende Wirkung des Darmsaftes überstehen sie dagegen wesentlich länger (KASS, 1952; SCHMIDTKE, 1954 a; NAKAJYO et al., 1956; WILDFÜHR, 1956/57).

In experimentellen Versuchen werden die Toxoplasmen in den Proliferationsformen ähnlich den freien Toxoplasmen schnell durch das künstliche HCl-Pepsin-Milieu abgetötet (JACOBS, 1953; SCHMIDTKE, 1956), während die Ansteckungsfähigkeit derjenigen aus den Cysten unter gleichen Bedingungen sehr lange erhalten bleibt (JACOBS, 1960 b).

Setzt man das pseudocystenhaltige Gewebe der verdauenden Wirkung einer 1%igen Trypsinlösung aus, so bleibt es länger infektiös als nach Einwirkung des HCl-Pepsin-Milieus,

aber nicht so lange wie cystenhaltiges Material (JACOB, 1953; 1960 b). Diese Versuchsergebnisse werden aber nicht generell von anderen Autoren bestätigt. KOZAR und seine Mitarbeiter (1952) z.B. untersuchten die Wirkung der Magensäfte (anacid - hyperacid) von 20 Versuchspersonen auf eine Organsuspension (Milz und Leber) kurz vorher getöteter und infizierter Mäuse. Da sie bis zu einer einstündigen Einwirkzeit des HCl-Pepsin-Milieus positive Ergebnisse erzielt haben, kann nach Meinung der Autoren die Möglichkeit einer oralen Infektion nicht bestritten werden, die sogar für den Fall einer Hyperacidität des Magensaftes bestehen soll.

Ogleich alle diese in-vitro-Versuche den natürlichen Infektionsweg nicht berücksichtigen, dürften sie dennoch als Erklärung und mögliche Deutung für die in den nächsten Kapiteln angeführten in-vivo-Untersuchungen nicht unwichtig sein.

Da die biologisch unterschiedlichen Entwicklungsstadien von *Toxoplasma gondii* erst nach und nach bekannt geworden sind, findet man vor allem in älteren Literaturstellen über Fütterungsversuche häufig keine genauen Angaben über die verwendeten Formen des Parasiten.

1. ohne Berücksichtigung des Toxoplasma-Stadiums

MANWELL und Mitarbeiter (1945) haben mit Erfolg Gewebe von mit Toxoplasmen infizierten Tieren an Kanarienvögel und Mäuse verfüttert.

EICHENWALD (1948) infizierte 20 weibliche Mäuse erfolgreich durch Verfütterung von toxoplasmenhaltiger Mäuseleber. Die Tiere erkrankten zunächst an einer generalisierten Toxoplasmose, die später in ein chronisches Stadium übergang.

Als JACOBS et al. (1950) infiziertes Gewebe an 84 weiße Mäuse verfütterten, konnten sie den Parasiten später nur in 11 Tieren nachweisen. Ein ähnliches Ergebnis er-

zielten KOZAR et al. (1952), als sie Meerschweinchen intragastral mit Hilfe einer Magensonde mit einer Organ-suspension von weißen Mäusen infizierten. Auch ihnen gelang es nicht, die Erreger aus allen Meerschweinchen zu isolieren.

Völlig negativ verliefen die Fütterungsversuche von WOLF und Mitarbeitern (1940), die Hirngewebe eines an Encephalomyelitis gestorbenen Kindes an Kaninchen verfütterten. Nach intraperitonealer Infektion von verschiedenen Versuchstieren hatten sich die Parasiten aus dem Hirngewebe isolieren lassen.

Hier seien auch noch Versuche verschiedener Autoren angeführt, die eine Infektion von Versuchstieren erfolgreich ausführten, wenn sie ihnen eine Suspension von zerriebenen, mit Toxoplasmen infizierten Insekten oder deren Darminhalt (allerdings nur bei sehr wenigen im Versuch stehenden Insektenarten) peroral verabreichten (LAVEN & WESTPHAL, 1950; WOKE et al., 1953). LAVEN & WESTPHAL gelang die Übertragung auch, wenn z.B. infizierte Flöhe von ihrem Wirtstier abgefressen wurden.

Zu diesen Untersuchungen kann eingewendet werden (STRASSMANN, 1964), daß die Parasiten höchstwahrscheinlich gar nicht mit der Magensäure in Berührung kamen, da sie durch das Chitin der Insekten vor dem Angriff der Magensäure geschützt waren und erst nach Auflösung der Insekten durch die Verdauungsfermente im Darm in Freiheit gesetzt wurden. NUSSENWEIG & DEANE (1958) konnten deshalb auch keine Infektionserfolge mit infizierten Triatoma erzielen, weil sie eine für den Erreger selbst nicht so günstige Versuchsanordnung verwendeten.

Ofter ist auch eine Verfütterung von Exkrementen von mit Toxoplasmen infizierten Tieren versucht worden. Negative Ergebnisse verzeichneten SABIN & OLITSKY (1937), MAN+ WELL et al. (1945) und JACOBS et al. (1950), als sie versuchten, Mäusekot von infizierten Tieren auf gesunde Mäuse zu übertragen.

LAVEN & WESTPHAL (1950) dagegen gelang die Übertragung mit Mäusekot auf gesunde Ratten. HUTCHISON (1965) infizierte erfolgreich 35 von 37 weißen Mäusen, als er ihnen Katzenkot mit einer Sonde verfütterte. Der Autor hatte allerdings die Katze nicht nur mit Toxoplasmen, sondern auch mit Nematoden infiziert, um die mögliche Bedeutung von "Wurmeiern" für die Übertragung der Toxoplasmen zu erforschen. Nach Meinung des Autors soll die Infektion nur durch die Nematodeneier stattgefunden haben, die angeblich selbst von Toxoplasmen befallen gewesen sind.

Die meisten Angaben in der Literatur sind über Fütterungsversuche mit Trophozoiten (Exsudat) und dem Proliferationsstadium in Organen von mit hochvirulenten Stämmen infizierten Tieren zu finden. Da der Einzelparasit das zuerst gefundene Entwicklungsstadium war, befassen sich die Ältesten Fütterungshinweise gerade mit dieser Form.

2. durch Trophozoite und Proliferationsformen

Der Älteste Hinweis auf einen positiven Fütterungsversuch findet sich wohl bei MESNIL et al. (1913), die zwei Mäuse mit einer Pipette mit verdünntem Mäuseexsudat fütterten; ein Tier starb an Toxoplasmose. Außerdem übertrugen sie den Parasiten erfolgreich auf eine weiße Maus, indem sie ihr Leber, Milz und Lunge einer infizierten Maus vermischt mit Weißbrot zu fressen gaben.

NICOLAU und sein Mitarbeiter (1935) haben erfolgreich mehrere javanische Reisfinken mit Exsudat aus Mäusen infiziert, die mit einem aus einem Hund isolierten Toxoplasma-Stamm beimpft worden waren; dasselbe ist ihnen mit einer Aufschwemmung der Milz von Kaninchen gelungen, die mit demselben Toxoplasma-Stamm wie die eben genannten Mäuse infiziert waren. Die Reisfinken sind teilweise an einer akuten Toxoplasmose gestorben.

Andere Autoren (LAINSON, 1954; MRAZ, 1959; VALLEE et al., 1961; SMETANA et al., 1962; RIFAAT & NORSEY, 1962) haben ebenfalls Erfolge erzielt, indem sie weiße Mäuse, Katzen und Hunde mit pseudocystenhaltigem Material fütter-

ten. Bei diesen Versuchen hat sich aber immer nur ein geringer Prozentsatz der Versuchstiere infiziert.

SIMIC und seine Mitarbeiter vermischten eine Organaufschwemmung, also Proliferationsformen (Pseudocysten) enthaltendes Material, mit dem Futter ihrer Versuchstiere. Dabei erzielten sie je nach der verwendeten Tierart unterschiedliche Resultate. Sehr gute Ergebnisse erhielten die Autoren bei Distelfinken (1959 b), Gänsen (1964 c) und Perlhühnern (1965 b); diese Tierarten ließen sich fast hundertprozentig infizieren. Wesentlich schlechter reagierten Hunde (1964 b) auf die Infektion, nur vier von neun Versuchstieren steckten sich an, die außerdem alle sehr jung waren. Enten (1963) und Wachteln (1965 a) erwiesen sich gegen eine Fütterung mit dem pseudocystenhaltigen Material als nahezu immun, d.h. es erkrankten höchstens nur 1% der Versuchstiere an Toxoplasmose.

Auch bei SCHMIDTKE (1956) haben Fütterungsversuche an Mäusen und Meerschweinchen mit pseudocystenhaltigem Material zu einem negativen Ergebnis geführt.

Mehrere Autoren haben ihre Versuchstiere mit Hilfe einer Magensonde infiziert, indem sie ihnen eine Suspension von Organen oder Exsudat direkt in den Magen gaben, wobei bei der Verabreichung von Pseudocysten nur bedingte Erfolge erzielt wurden. SIMIC und seinen Mitarbeitern (1957) gelang es nach dieser Methode nur 5 von 21 Hunden zu infizieren. Noch schlechter fiel das Ergebnis von NAKAYAMA et al. (1961) aus, die nur 1 von 35 Mäusen infizieren konnten. Dagegen war die Verabreichung des Exsudates mit einer Sonde sehr erfolgreich, da bei fast allen Autoren immer ein hoher Prozentsatz der Tiere erkrankte (DE RODANICHE, 1954; WILDFÜHR, 1956; NAKAYAMA et al., 1961; RIFAAT et al., 1962; u.a.). Diese Tatsache konnten allerdings SIMIC et al. in ihren Experimenten an Hunden (1958) und Katzen (1959) nicht bestätigen, da sich bei ihnen nur sehr wenige Tiere ansteckten, die außerdem noch sehr jung waren.

Zu völlig anderen Versuchsergebnissen kamen die meisten Autoren, die das Exsudat ihren Tieren unter die Nahrung gemischt haben. Nur WILDFÜHR (1956), SIMIC et al. (1959 a) und SMETANA & HEYBERGER (1962) verzeichneten Erfolge, als sie ihren Versuchstieren das Exsudat verfütterten. SIMIC und Mitarbeiter verwendeten sehr junge Katzen und konnten nur 3 von 25 Tieren infizieren. WILDFÜHR und SMETANA & HEYBERGER haben mit sehr großen Erregermengen gearbeitet. Diesen wenigen erfolgreichen Experimenten steht die größere Anzahl der Autoren gegenüber, denen eine Infektion von gesunden Tieren mit dem Einzelparasiten nicht gelungen ist (ADAMS et al., 1949; KASS, 1952; DE ROEVER-BONNET, 1959; MRAZ, 1959; SIMIC et al., 1961; 1963; 1964; u.a.).

Zusammenfassend kann man sagen, wie es HOLZ & BRINGMANN (1953) und SCHMIDTKE (1954 a; 1956) aus ihren eigenen Erfahrungen und auf Grund der eben genannten Ergebnisse schließen, daß dem Magensaft von ausgewachsenen Tieren eine starke antiparasitäre Wirkung zukommen dürfte. Daher sei eine natürliche, perorale Infektion mit freien Toxoplasma-Formen bei adulten Tieren als sehr unwahrscheinlich anzusehen, da die Parasiten bei der Passage des HCl-Pepsin-Milieus des Magens in äußerst kurzer Zeit vernichtet würden.

Die erfolgreichen Versuche einiger Autoren (MESNIL, 1913; DE RODANICHE , 1954; LAINSON, 1954; KULASIRI, 1962; RIFAAT & MORSY, 1962), die ihren Versuchstieren mit einer Pipette Exsudat in das Maul geträufelt haben, können nicht als eindeutig gewertet werden. Die Teilerfolge dieser Autoren könnten auch auf ein Eindringen der Parasiten in die Schleimhäute der Nase und des Rachens zurückzuführen sein.

Nach den teilweise erfolgreichen Tierversuchen einiger Autoren scheint das pseudocystenhaltige Gewebe gegen die verdauende Wirkung des Magensaftes im allgemeinen etwas widerstandsfähiger als die Trophozoite zu sein.

3. durch Cysten

Daß es sich bei den Entwicklungsstadien, die sich vor allem im Gehirn, aber auch in der Lunge und in der Skelettmuskulatur chronisch infizierter Tiere befinden, um echte Cysten handelt, ist erst 1958 von LAINSON erkannt und bewiesen worden. Daher stammen alle Angaben über Fütterungsversuche mit Cysten aus jüngster Zeit.

VAN THIEL et al. (1956) sprechen noch von "pseudocystenhaltigem" Gehirnmateriel, das sie erfolgreich an Mäuse und Meerschweinchen entweder unter das Futter gemischt oder allein verfüttert haben. Da sie aber nur Hirne von chronisch infizierten Tieren genommen haben, sind es wahrscheinlich nicht "Pseudocysten", sondern echte Cysten gewesen.

Ebenso gelang JACOBS et al. (1956/57) und JOSEPH et al. (1957) die Übertragung der Toxoplasmen auf Mäuse oder Meerschweinchen, nachdem sie ihnen Hirne von chronisch infizierten Tieren verabreicht hatten.

JONES et al. (1958) konnten 5 von 25 Mäusen erfolgreich durch Verfütterung von Hirngewebe natürlich infizierter Katzen (im SABIN-FELDMAN-Test 1:64 positiv und höher) anstecken. Während MELTON et al. (1962) chronische Infektionen mit Cystenbildung in Mäusen nach Verfütterung von Darm- und Lungengewebe hervorrufen konnten.

Die meisten Autoren haben das infektiöse Cystenmaterial (meist Organe oder Cysten von chronisch erkrankten Mäusen oder Ratten) unter das Futter der Versuchstiere gemischt. Auf diese Weise haben unter anderen DE ROEVER-BONNET (1959) weiße Mäuse, SIMIC und Mitarbeiter Hühner (1961), Hunde (1964 b) und Wachteln (1965 a) erfolgreich infiziert. Als besonders anfällig auch gegen die Cystenform von Toxoplasma erwiesen sich wiederum Perlhühner, mit denen SIMIC et al. (1965 b) besonders gute Infektionserfolge nach Fütterung auch von pseudocystenhaltigem Material erzielt hatten.

NAKAYAMA et al. (1961) konnten mit einer cystenhaltigen Hirnsuspension, die sie ihren 48 Versuchstieren (weiße Mäuse) mit Hilfe einer Magensonde applizierten, 47 Tiere infizieren.

Während ADAMS und Mitarbeiter (1949) nicht erreicht haben, daß sich gesunde Mäuse ansteckten, die an akuter Toxoplasmose gestorbene Artgenossen gefressen hatten, scheint dies mit chronisch infizierten Tieren zu gelingen. Unter anderen Autoren konnten SIMIC et al. Enten (1963), Gänse und Hühner (1964 c+a) erfolgreich infizieren, wenn sie ihnen Kadaver von chronisch erkrankten Mäusen unter das Futter mischten. Auch HUTCHISON (1965) hat Toxoplasmen auf Katzen übertragen können, wenn er ihnen chronisch infizierte Mäuse als Futter anbot.

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, daß eine Infektion mit Toxoplasmen mit großer Wahrscheinlichkeit gelingt, wenn Cysten peroral appliziert werden. Da es sich bei in-vitro-Versuchen (s.S. 21) gezeigt hat, daß die Cysten gegen die verdauende Wirkung des Magensaftes sehr resistent sind, dürfte die orale Übertragung des Cystenstadiums über den Magen-Darm-Weg geschehen.

Da nach Untersuchungen vor allem von JACOBS et al. (1960 a) die Muskulatur von Schweinen, Schafen und Rindern offenbar Cysten enthalten können, und es mehreren Autoren (GARNHAM & LAINSON, 1960; WEISS, 1962; STÖRMANN, 1962; BOCH et al., 1964) gelungen ist, aus Schlachtvieh cystenbildende Toxoplasma-Stämme zu isolieren, gewinnt roh genossenes oder nur ungenügend gekochtes Fleisch als Infektionsquelle für den Menschen eine erhebliche Bedeutung, wie es bereits WEINMAN & CHANDLER vermutet haben (s.S. 20).

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN UND ERGEBNISSE

I. Material und Methodik

Als Versuchstiere dienten weiße Mäuse (♀♀) des amerikanischen NMRI-Stammes, die sich in laufend durchgeführten Kontrollen immer als von Toxoplasmen frei erwiesen hatten. Sie wogen durchschnittlich 16-20 g. Bei einigen Versuchsreihen wurden leichtere oder schwerere Tiere genommen. Ihr Gewicht hat aber keinen Einfluß auf den Verlauf der Versuche gehabt.

Nicht infizierte Mäuse, die als Kontrollen mit den infizierten Tieren während der Versuchsdauer in einem Käfig lebten, wurden nach den gleichen Methoden wie die im Versuch stehenden Tiere untersucht. Diese Untersuchungen fielen immer negativ aus, ein weiterer Beweis dafür, daß die Versuchstiere vorher nicht latent mit Toxoplasmen infiziert gewesen waren.

Die Mäuse wurden in Makrolon-Käfigen mit Altromin-Standard-Diätfutter aufgezogen, das auch während der Versuchsdauer verfüttert wurde. Als Trinkwasser diente in Spezialflaschen gereichtes Leitungswasser. Für die Versuche benutzt man allgemein lieber weibliche Tiere, weil diese sich über eine längere Zeitdauer besser als männliche Tiere in Gemeinschaft halten lassen.

Die nachfolgend beschriebenen Experimente wurden zunächst mit insgesamt 484 Versuchstieren durchgeführt, deren Zahl sich durch Kontrolltiere und Auswertung der Ergebnisse auf $1410 + 484 = 1894$ Individuen erhöhte.

Der in den Untersuchungen verwendete sog. Bk Toxoplasma-Stamm ist von WINSSER und Mitarbeitern (1948) aus der Cerebrospinalflüssigkeit eines Kindes in Holland isoliert worden. Dieser Stamm ruft bei Mäusen nach ihrer Beimpfung Infektionen hervor, in deren Verlauf fast immer reichlich Peritonealexsudat gebildet wird und die immer mit dem Tod des infizierten Individuums enden. Den besten Erfolg erzielt man dabei durch intraperitoneale Impfung der Tiere, bei der ihnen eine Erregermenge von 1,8-2 Millionen in 0,3 ml

physiologischer Kochsalzlösung (0,85 %ig) appliziert wird.

Zu Versuchsreihen mit cystenbildenden Stämmen wurde der 1962 aus menschlichem Material (aus foetaler Milz und Leber, Abortmaterial, mens 6) angezüchtete Toxoplasma-Stamm ALT verwendet, der im Robert-Koch-Institut gehalten wird. Dieser Stamm zeichnet sich durch geringe Virulenz für Mäuse aus und bildet reichlich Cysten in ihren Hirnen.

Allgemein läßt sich sagen, daß die verschiedenen Toxoplasma-Stämme eine unterschiedlich starke, toxische Wirkung auf die Versuchstiere haben, die sich außerdem von Tierart zu Tierart ändern kann. Meist nimmt die Virulenz eines Stammes nach einigen Passagen in Individuen ein- und derselben Tierart zu (LEVADITI et al., 1928; SABIN, 1941; JACOBS, 1953). Worauf dieses Phänomen beruht, ist bis heute noch nicht erklärbar (s.S. 5).

Zur Gewinnung von cystenhaltigem Gehirnmateriel impfte ich Mäuse intraperitoneal mit je 0,3 ml cystenhaltiger Gehirnsuspension. Diese Suspension wurde entweder durch Schütteln eines infizierten Gehirns (bei ausgewachsenen Mäusen ist das Hirn ca 450 mg schwer) mit 1 ml physiologischer NaCl-Lösung in einer Schüttelflasche nach RODHAIN (1950) oder durch Zerreiben in einem Mörser hergestellt. Durch diese Methoden werden die Cysten vom umgebenden Gewebe befreit, bleiben aber auf Grund ihrer elastischen und relativ derben Hüllmembran als gleichmäßig runde oder ovale Gebilde erhalten. Um die in der Aufschwemmung vorhandene Anzahl der Cysten festzustellen, wurden 2 Tropfen (Kapillare = 0,02 ml je Tropfen) getrennt auf einem Objektträger unter je einem Deckglas (18 x 9 mm) bei 80-facher Vergrößerung ausgezählt. Je nach Anzahl der Cysten mußte die Gehirnsuspension mit physiologischer NaCl-Lösung so lange verdünnt werden, bis in der später verwendeten Impfflüssigkeit im Durchschnitt 3-5 Cysten pro Tropfen vorhanden waren. Das entspricht einer Infektionsdosis von 100-150 Cysten in

0,5 ml der Impfflüssigkeit, wobei die Anzahl der Cysten einen groben Überschlagswert darstellt.

Bei intraperitonealer Injektion (Kanüle Marke "Drei Pfeil", Stärke 12) infizierte ich die Versuchstiere meist mit 0,5 ml der Gehirnsuspension. Erhielten sie 0,3 ml eines Homogenisats aus Geweben, so verwendete ich eine Nadel von der Stärke 1. Von diesen Angaben abweichende Mengen sind bei den einzelnen Versuchen besonders vermerkt.

Zur Sondenfütterung diente eine selbst gefertigte Metallsonde, die aus einer Kanüle der Stärke S III durch Verbiegen und Rundschmelzen der Spitze hergestellt wurde. Ein Eindringen der Parasiten in die Nasen- und Rachenschleimhäute wurde durch Verwendung dieser Sonde ausgeschlossen. Außerdem bot diese Methode die Gewähr dafür, daß die Versuchstiere mit einer genau abgemessenen Menge infektiösen Materials gefüttert werden konnten; daraus ergab sich eine bessere Vergleichsbasis für die einzelnen Versuchstiere. Für die Sonden- und Fütterungsversuche verwendete ich Mäuse, die möglichst eine gleiche Zeitspanne gehungert hatten. Auf diese Weise konnte bei allen Versuchstieren annähernd das gleiche Milieu in Magen und Darm auf das infektiöse Material einwirken.

Nach der in jedem Versuch festgesetzten Zeitdauer wurden die Mäuse durch Chloroform getötet, und die steril entnommenen Hirne einzeln nach der gleichen Methode weiterverarbeitet wie diejenigen, die zur Gewinnung der infektiösen Gehirnsuspension gedient hatten. Bei einer 80-fachen mikroskopischen Vergrößerung wurden in dieser Aufschwemmung Cysten gesucht. Diese Vergrößerung mußte oft zur genaueren Nachprüfung durch eine 480-fache ersetzt werden, um Verwechslungen mit cystenähnlichen Gebilden auszuschließen (WERNER, 1966 a). Wurde bei den Untersuchungen am Magen ein negatives Ergebnis, also ein Fehlen von Cysten erwartet, so wurde nahezu die gesamte Gehirnsuspension mikroskopisch überprüft.

Bei allen anderen Experimenten kamen zur Bestätigung der mikroskopisch gewonnenen Versuchsergebnisse zusätz-

lich serologische Untersuchungen hinzu, nach der Methode des SABIN-FELDMAN-Testes.

Beim SABIN-FELDMAN-Test, auch Vitalfärbetest, wird die Hemmung der Vitalfärbbarkeit der Toxoplasmen mit alkaalischem Methylenblau durch Serumantikörper zum Maßstab der Konzentration dieser Antikörper im Serum gemacht (Titerhöhe). Die hitzebeständigen Antikörper, zu denen ein thermolabiler "accessory factor" (SABIN & FELDMAN, 1948; BEATTIE, 1964) gegeben wird, verändern den Parasiten also so, daß er sich mit basischer Methylenblaulösung nicht mehr anfärben läßt. Dieser Verlust der Anfärbbarkeit ist auf eine teilweise stattfindende Lyse zurückzuführen. Die Parasitenzelle verliert ihre Basophilie, weil sie einmal einen Teil ihres Cytoplasmas verliert (GUILLO et al., 1960) und zum anderen ein Verlust von RNS auftreten soll (DESMONTS, 1955; KULASIRI & DAS GUPTA, 1959). Nach neueren, elektronenoptischen Untersuchungen (LUDVIK et al., 1963 a) scheinen die Antikörper als ultrafeine Granula auf der äußeren Schicht der Zellmembran zu kleben. Sie umhüllen die gesamte Toxoplas mazelle mantelartig, deren Pellikula dadurch stark aufquillt. Die Kernmembran löst sich auf, die Toxonemen verschwinden, und die Mitochondrien runden sich ab.

Der "accessory factor", im deutschen Schrifttum als Aktivator bezeichnet, wurde im normalen, menschlichen Blutserum gefunden. Zum SABIN-FELDMAN-Test kann er aber nur von serologisch absolut negativen Spendern verwendet werden, die also keine Antikörper gegen die Toxoplasmen gebildet haben. Der Aktivator ist verwandt, aber nicht identisch mit dem Komplement (z.B. im Meerschweinchenserum) und gehört dem Properdin-System an (FELDMAN, 1956). Er hat die Aufgabe den thermostabilen Antikörper im inaktivierten Serum zur Entfaltung zu bringen, d.h. er hat katalytische Wirkung auf den Reaktionsablauf.

Es existiert in allen frischen Seren ein mehr oder minder starker, nicht spezifischer, lytischer Faktor, der

im Menschenserum dem Aktivator und ähnlichen, zum Teil noch unbekannten Komponenten in Tierseren entspricht. Um gleiche Ausgangsbedingungen für die zu untersuchenden Seren zu haben, werden daher alle Seren inaktiviert. Dadurch wird der in verschiedenen starken Konzentrationen vorhandene unspezifische Faktor zerstört.

Für den SABIN-FELDMAN-Test werden die Tiere durch Herzpunktion entblutet, das so gewonnene Blut wird 8 Minuten bei ca 3000 Umdrehungen / Min. zentrifugiert, die Blutseren werden danach mit einer Kapillare abpipettiert, 30 Minuten bei 56°C inaktiviert und im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt. Konnte ich die Seren nicht an einem der nächsten Tage weiteruntersuchen, so wurden sie bei -20°C eingefroren.

Den SABIN-FELDMAN-Test habe ich nach der modifizierten Methode von PIEKARSKI (Laboranweisung, 1960) durchgeführt. Den getöteten Mäusen habe ich das durch eine Infektion mit dem Bk Stamm gebildete Peritonealexsudat mit Veronal-Puffer nach MAYER (eine Hälfte Stammlösung, eine Hälfte aqua dest.) entnommen.

Für den Test können nur solche Exsudate verwendet werden, in denen die Toxoplasmen gerade die Wirtszellen verlassen haben. Die Einzelindividuen der Parasiten haften dann teilweise noch fest aneinander und bilden längere Ketten. Die Widerstandsfähigkeit der Parasiten gegen den lytischen Faktor des Serums ist eine Funktion ihrer Vitalität. Sie verschwindet im Verlauf der extrazellulären Phase des Parasiten. Nach BEVERLEY et al. (1952) soll dieser Effekt auf der Antikörperbildung der Maus beruhen und tritt in Exsudaten auf, die älter als drei Tage sind.

Ergibt eine mikroskopische Prüfung des Exsudates einen stärkeren Wert als ++ (Erfahrungswert = ca 30 Toxoplasmen im Gesichtsfeld bei einer 270-fachen Vergrößerung), so wird es entsprechend mit Veronalpuffer verdünnt; ist der abgelesene Wert schwächer als ++, so wird das Exsudat verworfen. Die Zahl der für den SABIN-FELDMAN-Test verwendeten Parasiten ist für die Titerhöhe ausschlaggebend.

Je größer die verwendete Toxoplasma-Menge ist, umso niedriger wird der Endtiter (FLECK, 1963).

Jedes Exsudat wird einzeln im sog. Vortest geprüft. Diese qualitative Prüfung dient der Feststellung, welches der Mäuseexsudate für den Haupttest als Antigen verwendet werden kann. Der Vortest wird wie folgt angesetzt.

Positive Kontrolle: 1 Tropfen positives Kontrollserum
(inaktiv)

+ 2 Tropfen Aktivatorserum

+ 1 Tropfen Mäuseexsudat.

Negative Kontrolle: 1 Tropfen Aktivatorserum

+ 1 Tropfen Mäuseexsudat

Nachdem diese Ansätze 30 Minuten in einem Wasserbad bei 37°C standen, werden sie mit einer speziellen Methylenblaulösung abgelesen.

Als Stammlösung für das Methylenblau dient eine gesättigte, alkoholische Lösung von MERCK, die vor Verwendung drei Wochen lang reifen mußte. Die Pufferlösung besteht aus:

1. 0,53 %iger Na_2CO_3 -Lösung

2. 1,91 %iger $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ -Lösung + 10 H_2O .

Durch Vermischen von 9,73 cm^3 der Lösung 1 mit 0,27 cm^3 der Lösung 2 erhält man eine Endlösung des pH-Wertes 11, der 3 ml Methylenblaustammlösung zugesetzt werden.

Man bezeichnet das Ergebnis des SABIN-FELDMAN-Testes als positiv, wenn die Toxoplasmen nicht angefärbt sind, als negativ bei gefärbten Toxoplasmen. In manchen Fällen ist das Ergebnis nicht eindeutig. Dann werden ca 50 Toxoplasmen im Mikroskop ausgezählt. Der Test ist dann positiv, wenn die ungefärbten Toxoplasmen überwiegen; überwiegen dagegen die gefärbten Toxoplasmen, so ist der Test negativ. Die Titerangaben beziehen sich auf die jeweilige Gesamtverdünnung des Serums (zu un-

tersuchendes Serum + Aktivator + Toxoplasma-Aufschwemmung + Puffer) und nicht auf die Originalverdünnung des Serums. Mäuse-Exsudate, die nicht eindeutig positiv und negativ abzulesen sind, werden für den Haupttest nicht verwendet.

Für den Haupttest, der eine quantitative Prüfung ist, setzte ich die Verdünnungsreihe mit Veronalpuffer (nach MAYER) in den Stufen 1:16 und 1:64 (Titerangaben) an. Bei den Versuchen wurde eine Maus als bereits infiziert angesehen, wenn sie einen Titer von 1:16 aufwies. GUILLO (1960) fand nämlich bei sehr niedrigen, ja sogar negativen Titerwerten Cysten. Diese Befunde konnte ich in eigenen Untersuchungen bestätigen (s.S. 55).

Die Verdünnungsreihe wird wie folgt aufgestellt:

0,15 ml Puffer (halb Stammlösung + halb aqua dest.) +	
0,05 ml des zu untersuchenden Serums +	
0,1 ml Aktivator +	
0,05 ml Exsudat	= 1:16
0,15 ml Puffer +	
0,05 ml Gemisch 1:16 +	
0,1 ml Aktivator +	
0,05 ml Exsudat	= 1:64

Nach guter Durchmischung der angesetzten Lösungen und nach 30 Minuten in einem Wasserbad bei 37°C werden die Seren mit Methylenblaulösung abgelesen.

Die Komplementbindungsreaktion, die heute allgemein als ergänzende Seroreaktion in der Toxoplasmose-Diagnostik der Humanmedizin Verwendung findet, wird meist nach der modifizierten Methode von COLMER durchgeführt und entspricht technisch der WASSERMANN'schen Reaktion. Sie kann für Tierseren nur begrenzt angewendet werden (z.B. Kaninchen). Im allgemeinen eignet sie sich nicht für die kombinierte Methode zur Parasitenisolation, da sie zu unregelmäßig und zu spät positiv wird (ROMMEL & MÜLLER, 1963), was vor allem für Mäuse gilt.

Wurden zur mikroskopischen Prüfung Ausstriche angefertigt, die Toxoplasmen enthielten, so wurden sie 5 Minuten in Methylalkohol fixiert. Die Färbung erfolgte bei Zimmertemperatur nach einer modifizierten Methode von GIESE eine halbe Stunde lang. Die Farblösung war dabei wie folgt zusammengesetzt:

80 ml aqua dest. (pH 6,8)

10 ml Azur-II-Lösung (0,8 mg auf 500 ml H₂O)

1 ml wasserlösliche Eosinlösung (1 %ig)

Nach der Färbung wurden die Präparate mit Leitungswasser abgespült.

II. Versuche mit dem nicht cystenbildenden Toxoplasma - Stamm Bk

Wie schon erwähnt, ist der Bk-Stamm für Mäuse sehr virulent. Es kann bei ihm zu keiner Cystenbildung kommen, weil die Vermehrungsrate der Parasiten in den Geweben des Wirtes zu hoch ist und dadurch die Schädigung der Wirtszellen zu groß ist, so daß die infizierten Tiere immer vor Entstehung der Cysten sterben (JACOBS, 1953; 1956/57; LAINSON, 1958; DE ROEVER-BONNET, 1959; JACOBS, 1961; 1963; MATSUBAYASHI et al., 1963; WERNER, 1963 b; u.a.).

Zur Gewinnung infektiösen Materials für die nachfolgend angeführten Versuche wurden 7 Mäuse mit dem Bk-Stamm intraperitoneal infiziert und getötet und die Parasiten aus dem entnommenen Exsudat in der THOMA'schen Zählkammer ausgezählt. 1 ml Flüssigkeit enthielt ca 13 Millionen freie Toxoplasmen. Die noch in den Zellen des Aszites verbliebenen Parasiten mußten unberücksichtigt bleiben, da sie durch Auszählen nicht erfaßbar waren. Um diesen Fehler möglichst klein zu halten, wurde nur solcher Aszites verwendet, der viele freie Toxoplasmen und möglichst wenige Zellen enthielt.

Die 7 gleichzeitig entnommenen Hirne der Mäuse wurden

mit 14 ml physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

Um zu sehen, ob die Toxoplasmen im Magen (HCl-Pepsin-Milieu) der Mäuse immer so geschädigt werden, daß sie ihre Virulenz verlieren, infizierte ich 30 Versuchstiere mit dem Bk Toxoplasma-Stamm peroral. Die Zahl der im Versuch stehenden Tiere erhöhte sich durch Kontrollen auf 48 Individuen.

1. Fütterungsversuche

Ein aus Weißbrot und Milch bestehender Brei, dem ich jeweils 1,5 ml verdünntes und unverdünntes Exsudat beigab, verfütterte ich an jeweils 5, seit ca 20 Stunden hungernde Mäuse.

5 Mäuse, die ebenfalls seit ca 20 Stunden hungerten, fraßen 2,5 ml der unter Weißbrot und Milch gemischten Gehirnsuspension. Innerhalb 1 Stunde verzehrten die Tiere das infektiöse Futter fast vollständig.

Durch gleichzeitige intraperitoneale Infektion von 11 Mäusen mit verdünntem und unverdünntem Exsudat und mit der Gehirnsuspension prüfte ich nach, ob das verwendete Material infektiös war.

Versuchsergebnisse:

Wie sich aus der Tabelle I ergibt, war das Exsudat infektiös, so daß alle Tiere aus dem Kontrollversuch an einer akuten Toxoplasmose erkrankt waren. Sie starben teilweise am zweiten Tag nach der Impfung. Die Überlebenden Tiere wurden an verschiedenen Tagen getötet und ihr Aszites mikroskopisch auf Toxoplasmen untersucht. In allen Fällen waren in ihm freie Parasiten zu finden.

Dagegen erkrankte keines derjenigen Tiere an Toxoplasmose, die die beiden infektiösen Breie gefressen hatten. Sie wurden am 13. Tag nach der Infektion getötet. Das im SABIN-FELDMAN-Test untersuchte Serum erwies sich bei allen Tieren als einwandfrei negativ. Die mikroskopisch untersuchten Peritonealflüssigkeiten von je 1 Tier aus den beiden Versuchsreihen enthielten keine Parasiten.

In den beiden folgenden Tabellen I + II (S. 38 + 40) wurde das Exsudat als positiv bezeichnet, wenn freie Toxoplasmen in ihm sichtbar oder die Zellen in ihm befallen waren. Konnten die Toxoplasmen in keiner Form nachgewiesen werden, so wurde die Peritonealflüssigkeit als negativ aufgeführt.

Tabelle I Fütterungsversuch mit dem Bk-Stamm

MAUS Nr.	<u>EXSUDAT</u> Kontrolle				<u>Gehirn</u> Kontrolle	
	<u>gefressen</u> reines, mit unverd. NaCl- Lösung verd.		<u>intraperitoneal</u> reines, mit unverd. NaCl- Lösung verd.		<u>gefressen</u>	<u>intra- perito- neal</u>
	13 Mil- lionen/ 1 ml	13 Mil- lionen/ 2 ml	13 Mil- lionen/ 1 ml	13 Mil- lionen/ 2 ml		
1	Am 12. Tag post infect. getötet. Aszites: <u>negativ</u>		Am 2. Tag post infectionem +		Am 17. Tag post	Am 6. Tag post in- fectionem +
2	Am 13. Tag post infec- tionem ge- tötet. Blutseren im SABIN- FELDMAN- Test untersucht. Seren: <u>negativ</u>		Am 2. Tag post infectionem getötet. Aszi- tes: <u>positiv</u>		infectio- nem ge- tötet.	Am 6. Tag post in- fec. ge- tötet. As- zites: <u>positiv</u>
3			Am 5. Tag post infectionem getötet. Aszi- tes: <u>positiv</u>		Blutseren im SABIN- FELDMAN- Test	Am 6. Tag post in- fec. ge- tötet. As- zites: <u>positiv</u>
4					unter- sucht. Seren: <u>neg.</u>	Am 7. Tag post in- fectionem +
5						Am 7. Tag post in- fec. ge- tötet. As- zites: <u>positiv</u>

Alle 5 mit der Gehirnsuspension geimpften Mäuse erkrankten unter Anzeichen einer Toxoplasmose. 2 Tiere starben am 6. bzw. 7. Tag nach der Infektion. Die 3 anderen Tiere wurden kurz vor dem Exitus getötet und ihr reichlich gebildeter Aszites mikroskopisch untersucht. Er enthielt keine freien Toxoplasmen. Um deshalb seine Infektionsfähigkeit nachzuprüfen, wurde das Exsudat von 2 Mäusen mit 1 ml NaCl-Lösung ausgespült und auf 3 gesunde Mäuse intraperitoneal verspritzt. Durch diese Subpassage gelang es in beiden Fällen freie Toxoplasmen im Exsudat nachzuweisen. Dadurch wurde die Infektionsfähigkeit der ursprünglichen Gehirnsuspension bewiesen.

Die Tiere, die den infektiösen Hirnbrei gefressen hatten, erkrankten nicht. Der ca 3 Wochen nach der infektiösen Mahlzeit durchgeführte SARIN-FELDMAN-Test ergab für alle 5 Mäuse eindeutig negative Werte (s. Diskussion S. 70 ff).

2. Sondenversuche

Diese Experimente führte ich gleichzeitig mit den Fütterungsversuchen durch.

Mit Hilfe einer Sonde (s.S. 31) wurden jeweils 5 hungrige Mäuse mit positivem, unverdünntem und verdünntem Exsudat zu je 0,3 ml und mit der in den Fütterungsversuchen verwendeten Gehirnsuspension infiziert.

Als Kontrolle für die verwendeten Exsudate wurden jeweils 2 Mäuse intraperitoneal infiziert. Die Gehirnsuspension war bereits bei den Fütterungsversuchen geprüft worden.

Versuchsergebnisse:

Alle mit der Sonde mit Exsudat infizierten Tiere erkrankten, einige davon starben. Nicht alle toten Mäuse konnten untersucht werden, da sich die Peritonealflüssigkeit gewöhnlich sehr schnell zersetzt. Die untersuchten Tiere hatten entweder Toxoplasmen im Exsudat oder aus ihm konnten freie Toxoplasmen durch Subpassage isoliert werden.

Es zeigte sich aber, daß die mit der Sonde infizierten Mäuse länger als die intraperitoneal infizierten Tiere überlebten, die schwer an einer akuten Toxoplasmose erkrankten und bereits am 2. Tag post infectionem, kurz vor ihrem Exitus getötet werden mußten. Die mikroskopische Prüfung ergab in allen Fällen ein positives Exsudat.

Tabelle II

Sondenversuch mit dem Bk-Stamm

<u>MAUS</u> Nr.	<u>EXSUDAT</u>				<u>GEHIRN</u>
	<u>Kontrolle</u>				
	<u>Sondenfütterung</u>	<u>intraperitoneale</u>	<u>Infektion</u>	<u>Sonden-</u>	<u>fütter.</u>
	reines, <u>unverd.</u> 13 Milli- onien / 1 ml	mit NaCl- Lösung verd. 13 Milli- onien / 2 ml	reines, <u>unverd.</u> 13 Milli- onien / 1 ml	mit NaCl- Lösung verd. 13 Milli- onien / 2 ml	
1	Am 3. Tag post inf. ✚ Aszites: <u>positiv</u>	Am 3. Tag post inf. getötet. Aszites: <u>positiv</u>	Am 2. Tag post infectionem getötet. Aszites: <u>positiv</u>		Am 8. Tag post in- fectionem ✚ <u>kein</u> Exsu- dat
2	Am 3. Tag post inf. getötet. Aszites: <u>negativ</u>		Am 2. Tag post infectionem getötet. Aszites: <u>positiv</u>		ca 3 Wo- chen post infectio- nem getö- tet. Blutseren: <u>negativ</u> (Blutseren im SABIN- FELDMAN- Test unter- sucht.)
3	Am 5. Tag post infecti- onem ✚	Am 5. Tag post infecti- onem ✚			
4					
5	Am 6. Tag post infectionem getötet. Tier war moribund				

Die mit der Hirnsuspension mit einer Sonde infizierten Tiere erkrankten nicht. Eine Maus starb am 8. Tag nach der Infektion; die Todesursache blieb hier unbekannt. Die Blutseren der Überlebenden Mäuse wurden ca 3 Wochen nach der Infektion im SABIN-FELDMAN-Test auf Toxoplasma-Antikörper geprüft. Die 4 Tiere hatten eindeutig negative Titer.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß Parasiten von hoch virulenten Toxoplasma-Stämmen, wie es diejenigen des Bk Stammes sind, im allgemeinen durch eine Magen-Darm-Passage abgetötet werden. Das ergab sich sowohl durch Verfütterung von Einzelparasiten (Exsudat), als auch von hauptsächlich pseudocystenhaltigem Material (Gehirn). Auch nach Verabreichung des Hirnmaterials mit einer Sonde wurden die Erreger im Magen oder Darm so geschädigt, daß sie nach Passieren des Digestionstraktes nicht mehr infektiösfähig waren.

Wurde dagegen Exsudat, das allerdings sehr viele Parasiten enthielt, mit einer Sonde gegeben, so konnten genügend Toxoplasmen der verdauenden Wirkung des Magen- und Darmsaftes widerstehen, um später in den Versuchstieren tödliche Infektionen hervorzurufen (s. Diskussion S. 70 ff).

III. V e r s u c h e m i t d e m c y s t e n b i l - d e n d e n T o x o p l a s m a - S t a m m A L T

Für die folgenden Versuche verwendete ich nur Cysten, deren Wand unbeschädigt war, d.h. die Parasiten befanden sich innerhalb der schützenden Hülle.

1. Vorversuche

Die Vorversuche sollten der Klärung dienen, ob sich beim ersten Auftreten von Cysten durch unterschiedliche Infektionswege zeitliche Differenzen ergeben und wie lange der Nahrungsbrei im Magen einer seit vielen Stunden hungernden Maus nach einmaliger Fütterung verbleibt.

Als Infektionswege untersuchte ich die intraperitoneale Infektion, die Verfütterung von cystenhaltigem Gehirnmaterial und die Infektion mit Hilfe einer Magensonde. Diese Wege wurden deshalb gewählt, weil sie bei allen späteren Experimenten Verwendung finden sollten. Hieraus ergaben sich 3 große Versuchsgruppen.

Es wurde eine Gehirnsuspension von mit dem Stamm ALT infizierten Mäusen nach der früher (s.S. 30) beschriebenen Methode hergestellt und auf 50 Mäuse intraperitoneal gespritzt.

Ab 5. Tag post infectionem wurden jeden Tag 5 Mäuse getötet und ihre Hirne mikroskopisch auf Cysten durchgesehen. Dabei wurden die ersten, größeren Cysten am 9. Tag nach der Infektion gefunden.

In der zweiten Versuchsgruppe infizierte ich 35 Mäuse mit Cysten, indem ich ihnen einen Brei aus cystenhaltigen Hirnen, Weißbrot und Wasser zu fressen gab. Diese Tiere hatten vorher ca 19 Stunden gehungert, nahmen daher den Brei gern an und fraßen ihn in einer Stunde auf. Danach wurde den Tieren Futter und Trinkwasser gegeben, das sie ebenfalls sogleich annahmen.

Ab 8. Tag nach der Infektion wurden jeden Tag 5 Tiere getötet und wie in der ersten Versuchsgruppe untersucht. Am 9. Tag nach der per-os-Infektion fand ich die ersten Cysten, die etwa die gleiche Größe wie die aus dem ersten Versuch hatten. Ab 12. Tag traten sie vermehrt auf. Während des Versuchs starben 4 Tiere, deren Gehirne infolge der fortgeschrittenen Verwesung nicht mehr untersucht werden konnten.

Die Sonderfütterung wurde in zwei Teilen durchgeführt. Bei diesem Versuch wurden 50 seit ca 20 Stunden hungernde Tiere verwendet.

25 von ihnen wurden mit einer Gehirnaufschwemmung (Stamm ALT und Stamm KA (aus einem Kaninchen isoliert) gemischt) in physiologischer Kochsalzlösung zu je 0,3 ml

mit der Magensonde infiziert.

Im zweiten Teil wurde das obige Material mit einer Suspension von allen im Labor gehaltenen, cystenbildenden Stämmen vermischt und 20 Minuten bei 1000 Umdrehungen / Minute zentrifugiert; das Sediment verdünnte ich solange mit Kuhmilch, bis die Cystenzahl eines Tropfens mit der der Ausgangslösung (Experiment 1) übereinstimmte. Mit dieser Mischung wurden die restlichen 25 Mäuse mit der Sonde infiziert. Die Tiere vertrugen die mit Milch vermischte Hirnsuspension wesentlich besser als das Gemisch aus physiologischer Kochsalzlösung und Exsudat, das einige von ihnen sofort erbrachen.

Am 6. Tag nach der Infektion wurden die ersten 5 Tiere getötet und ihre Hirne in der gleichen Weise wie in den ersten beiden Versuchsgruppen untersucht. Die ersten, mit denjenigen aus den Experimenten 1 und 2 gleich großen Cysten fand ich wiederum am 9. Tag nach der Infektion. Am 13. Tag traten sie vermehrt in den untersuchten Präparaten auf. Während des Versuchs starben 5 Tiere, die aus den oben erwähnten Gründen ebenfalls nicht mehr untersucht werden konnten.

Aus den 3 Versuchen (135 Versuchstiere) geht hervor, daß für das erste Auftreten der Cysten im Gehirn die hier gewählten, verschiedenen Infektionswege offenbar keine Rolle spielen, da ich in allen Versuchen die ersten Cysten zu demselben Zeitpunkt gefunden habe. Außerdem konnten die zahlreichen Angaben in der Literatur bestätigt werden, daß eine per-os-Infektion mit cystenhaltigem Material immer erfolgreich verläuft und daß die Cysten gegen Verdauungssäfte viel resistenter als die Trophozoite und Proliferationsformen sind.

Die am 9. Tag nach der Infektion gefundenen Cysten enthielten schätzungsweise über 100 Einzelparasiten. Durch fluoreszierende Antikörper (nach der Methode von COONS & KAPLAN, 1950; modifiziert nach GOLDSTEIN et al., 1961; WOOD et al., 1965; überarbeitet von VOSS et al., 1966) wies ich kleinste Cysten (4-8 Parasiten) desselben Toxoplasma- Stammes bereits nach 5 bis 6 Tagen nach.

Ich verfütterte ein Gemisch aus Milch, Weißbrot und Aktivkohle an 9 nüchterne Tiere, um die Aufenthaltsdauer des Nahrungsbreis im Magen zu prüfen. Einen Zusatz von Aktivkohle verwendete ich, um den Mageninhalt bei der späteren mikroskopischen Prüfung besser sichtbar machen zu können. Nach der Mahlzeit wurden jede Stunde 3 Mäuse getötet und ihr Mageninhalt mikroskopisch untersucht.

Die Hirne von 5 gesunden Mäusen wurden mit 10 ml Milch in einer Schüttelflasche homogenisiert und an 12 hungerrnde Tiere zu je 0,3 ml mit Hilfe einer Magensonde verabreicht. Die Mageninhalte von je 3 Mäusen wurden jede Stunde mikroskopisch untersucht.

Bei beiden Experimenten ergab sich, daß der Magen nach 3 bis 4 Stunden Verdauungszeit geleert war.

2. Hauptversuche

a. Untersuchungen am Digestionstrakt

a. Magen

Der Magen einer Maus gliedert sich in den nicht drüsigen, dünnwandigen Vormagen und den dickwandigen Drüsenmagen, der die Pylorus- und Magendrüsen enthält. Der Ösophagus mündet nicht an der höchsten Stelle in den Magen ein (Einmündungsstelle = Cardia). Ungefähr in Richtung seiner Einmündung verläuft die Grenzlinie zwischen Drüsen- und Vormagen.

Mit einer Metallsonde wurde eine Gehirnsuspension 63 hungernden (ca 24 Stunden) Mäusen direkt in den Magen gegeben. Die Infektionsdosis ergab sich aus der Anzahl der verfütterten Cysten. Diese Zahl stellte, wie bereits erwähnt, in diesem wie in allen folgenden Versuchen eine sehr grobe Überschlagsberechnung dar.

Die Verdauungszeit war im Versuch festgesetzt. Danach wurde der Mageninhalt mikroskopisch in nicht fixierten Lebend- und nach GIEMSA gefärbten Präparaten auf Cysten geprüft.

Tabelle III

Prüfung des Mageninhaltes auf Cysten

MAUS Nr.	SERIE / VERDAUUNGSGEIT (MINUTEN)											
	A sf.	B 5	C 10	D 15	E 20	F 30	G 45	H 60	I 90	J 120	K 180	L 240
1	N+ 200	N+ 100	N- 100	N- 100	N+ 200	N+ G+ 300	N- G- 300	N- 30	N- 200	N- 30	N- 30	N- 30
2	N+ 200	N- 100	N- 100	N- 100	N+ 200	N- 200	N+ G+ 300	N- 200	N(+) 200	N- 200	N- 30	N- 30
3	N+ 100	N+ 60	N- 75	N+ G- 300	N+ 200	N- 200	N+ 225	N- 200		N- 200	N- 30	N- 30
4	N+ 100	N- 60	N- 75		N- 200			N- 300		N- 30		
5	N+ 60	N- 60	N+ 75		N- 200			N- 30		N- 30		
6	N+ 60	N- 60	N+ 75					N- 30				
7		N+ 75	N+ 275					N- 30				
8		N+ 75	N+ 275					N- 225				
9		N+ G+ 300	N+ 275					N- 30				
10			N+ 275					N- 30				
11			N- G+ 300									

In der Tabelle bedeutet:

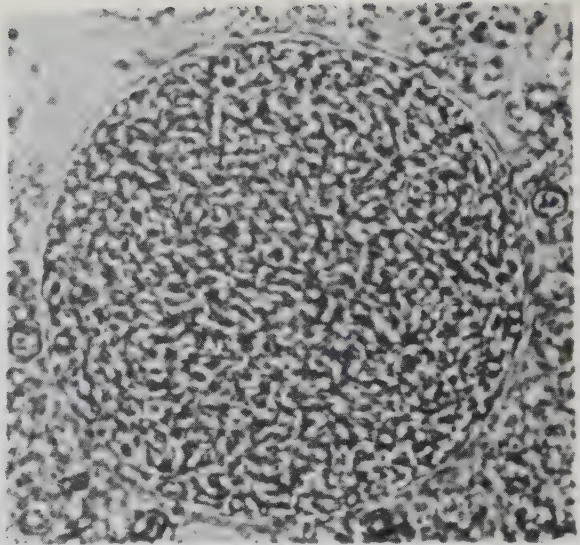
sf. = sofort

Zahlen = Anzahl der verfütterten Cysten

N- / N+= keine Cysten / Cysten im unfixierten Lebendpräparat

G- / G+= keine Cysten / Cysten im nach GIESSA gef. Präparat

Abbildung 5:



Die Abbildung stellt eine im Mageninhalt einer weißen Maus nach 45 Minuten Verdauungszeit gefundene Cyste dar. Sie ist nach Verfütterung von Hirn aus dem Mageninhalt des Tieres isoliert worden. Toxoplasma-Stamm ALT. Unfixiertes Frischpräparat; Vergrößerung: 1800-fach

Wie aus der Tabelle und dem Photo ersichtlich ist, wurden bis zu einer Verdauungszeit von 45 Minuten häufig gut erhaltene Cysten gefunden. Mit zunehmender Verdauungszeit nahmen die Schrumpfungerscheinungen an den Membranen der Cysten zu. Die Stärke der Infektion spielte nur eine untergeordnete Rolle, da öfter bei einer niedrigeren Dosis Cysten gesehen wurden, während das bei höheren Dosen nicht gelang. Wie stark die Cysten vom Magensaft angegriffen werden, hängt von seiner Zusammensetzung ab, die von Individuum zu Individuum wechseln kann. Im Laufe der Verdauungszeit nahm die Zahl der wie-

der aufgefundenen Cysten ab, und ab 60 Minuten Verdauungszeit gelang es mir bei keinem der untersuchten Tiere, Cysten im Mageninhalt nachzuweisen. Der einmalige Fund einer Cyste nach einer Verdauungszeit von 90 Minuten beruhte wohl nur darauf, daß die gefundene Cyste in einem Gewebestückchen eingebettet gewesen war (s. Diskussion S. 73).

Da nach den mikroskopischen Untersuchungen die Cystenmembran im Magen offensichtlich verändert wird, sollten die folgenden Versuchsreihen klären, ob innerhalb der festgesetzten Versuchszeiten durch eine eventuelle Auflösung der Cysten die freigewordenen Parasiten aktiv in die Magenwand eindringen und wie lange der Mageninhalt infektiös ist. Diese Fragen versuchte ich durch künstliche Infektionen bei Mäusen zu beantworten.

Nach mikroskopischer Feststellung der Cystenzahl (0,5 ml Suspension enthielten schätzungsweise 100-275 Cysten) der für die Experimente verwendeten Gesamtaufschwemmung des Hirnmaterials wurde den im Versuch stehenden Mäusen (jede Versuchsserie umfaßte 6 Tiere) mit einer Sonde 0,5 ml der Suspension in den Magen gegeben. Die Zeitspanne der Verdauung war jeweils festgesetzt. Danach tötete ich die Tiere einzeln, präparierte ihren Magen heraus und schwemmte jeden Mageninhalt mit 1 ml physiologischer Kochsalzlösung auf. Jede von 1 Versuchstier stammende Aufschwemmung wurde je 3 gesunden Mäusen intraperitoneal eingespritzt.

Gleichzeitig spülte ich jeden Magen einzeln mit NaCl-Lösung als Waschflüssigkeit in 6 verschiedenen Petrischalen, die nach dreimaliger Benutzung ausgewechselt wurden. Zwischen jedem Waschen trocknete ich ihn auf beiden Seiten mit Fließpapier ab. Nach Zerreiben des Magengewebes in einem Mörser schwemmte ich es mit 1 ml physiologischer Kochsalzlösung auf und spritzte jeweils 3 gesunde Mäuse intraperitoneal mit dieser Suspension.

Nach frühestens 4 Wochen wurden die Mäuse getötet und ihre Hirne auf das Vorkommen von Cysten untersucht. Dieser

Zeitpunkt eignet sich deshalb gut zum Überprüfen der Kontrolltiere, da diese in ihren Hirnen bereits recht zahlreiche Cysten und eine genügend große Menge Antikörper gebildet haben, die leicht im SABIN-FELDMAN-Test erfaßt werden kann.

Versuchsergebnisse:

Wie aus der Tabelle für den Mageninhalt auf Seite 49 ersichtlich ist, starben bei den kurzen Versuchszeiten sehr viele Mäuse. Mit großer Wahrscheinlichkeit lag dies an der noch großen Anzahl der verimpften Erreger, die in den intraperitoneal infizierten Mäusen eine starke Infektion hervorriefen.

Bis zu einer Verdauungszeit von 45 Minuten einschließlich waren die Mageninhalte aller Mäuse infektiös (von allen 6 Tieren). Nach 60 und 120 Minuten ließen sich nur noch aus 4 Inhalten Parasiten isolieren, wobei zwischen 60 und 120 Minuten ein deutlicher Abfall in der Infektionsstärke auftrat (50% bzw. 29% der Mäuse waren positiv). Nach 3 Stunden ließen sich in keinem Mageninhalt Parasiten nachweisen.

Aus der Tabelle auf Seite 49 ist außerdem ersichtlich, daß die Toxoplasmen nicht in die Magenwand eindringen. Allerdings erwiesen sich bei den Verdauungszeiten 30, 45 und 60 Minuten 2 bzw. 1 Magenwand als von Parasiten befallen, wobei jeweils nur 1 bzw. 2 Abimpfungen (von je 3) infiziert worden sind. Diese wenigen positiven Funde werden später diskutiert werden (s.S. 74).

Zeichenerklärung zu der Tabelle IV auf Seite 49:

- + = gestorbene Tiere
- = Ausfälle an Versuchstieren
- p = Parasiten wurden gefunden
- n = Parasiten wurden nicht gefunden
- a-c = von jedem Versuchstier angelegte 3
Abimpfungen (Kontrolltiere)

Tabelle IV

MAGENINHALT

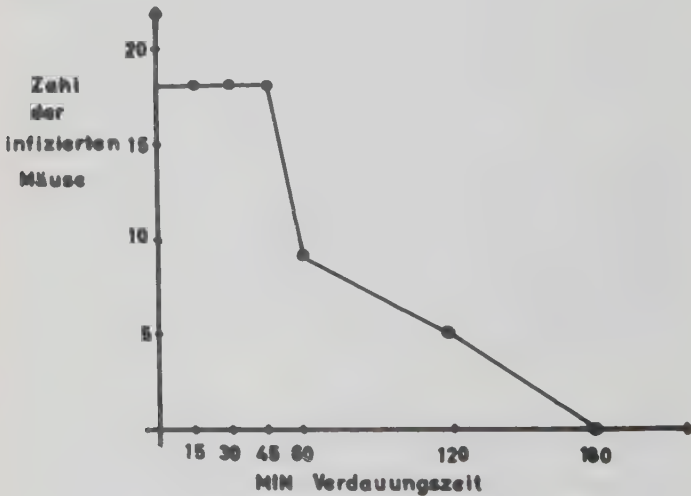
Maus (0,5 ml per os) Nr.	Serie / Verdauungszeit (min.)					
	A/15	B/30	C/45	D/60	E/120	F/180
1	a +	+	+	n	n	n
	b +	p	p	n	p	n
	c +	p	p	p	p	n
2	a -	p	+	p	p	n
	b +	p	p	p	n	n
	c p	p	p	n	-	n
3	a +	p	p	n	n	n
	b p	p	p	n	n	n
	c p	p	p	n	p	n
4	a +	+	+	n	n	n
	b p	p	p	n	n	n
	c p	p	p	n	n	n
5	a +	p	+	p	n	n
	b p	p	+	p	n	n
	c p	p	p	p	p	n
6	a +	+	+	p	n	n
	b p	+	p	p	n	n
	c p	p	p	p	n	n
Gesamtzahl der Mäuse mit pos.Bef.	9 (8+)	14(4+)	12(6+)	9	5	0
Anzahl der inf. Ma- geninhalte	5	6	6	4	4	0

MAGENWAND

1	a n	n	p	-	n	n
	b n	n	n	n	n	n
	c n	n	n	n	n	n
2	a n	p	n	p	n	n
	b n	n	n	n	n	n
	c n	n	n	n	n	n
3	a n	n	n	n	n	n
	b n	p	n	n	n	n
	c n	p	n	n	n	-
4	a n	n	n	n	n	n
	b n	n	n	n	n	n
	c n	n	n	n	n	n
5	a n	n	n	n	n	n
	b n	n	n	n	n	n
	c n	n	n	n	n	n
6	a n	n	n	n	n	n
	b n	n	n	n	n	n
	c n	n	n	n	n	n
Gesamtzahl der Mäuse mit pos.Bef.	0	3	1	1	0	0
Anzahl der inf. Ma- genwände	0	2	1	1	0	0

Für die folgende graphische Darstellung wurden die gestorbenen Mäuse als infiziert angesehen, da aus derselben Dreiergruppe meist wenigstens ein Tier Cysten hatte und die gestorbenen Tiere bei regelmäßigen Stichproben immer Parasiten beherbergten.

Abbildung 6:



Die Zeitspanne der Infektionsfähigkeit des Mageninhaltes, dargestellt durch die Anzahl der infizierten Tiere.

B. Darm

Die Experimente wurden an Dünn- und Dickdarm ausgeführt.

Dünndarm

Die Länge des Dünndarms ist sehr unterschiedlich (ca 30-46 cm) und hängt stark von dem Gewicht der Mäuse ab. Bei 14g Körpergewicht beträgt sie ca 28 cm, bei 30g Körpergewicht 50 cm. Jejunum (Leerdarm) und Ileum

(Krummdarm) sind etwa 20-25 cm lang, d.h. das Dreifache der Körperlänge des Tieres (HAGEMAN et al., 1960).

Wie bei den Untersuchungen am Magen gab ich hungernden (ca 24 Stunden) Mäusen eine Hirnsuspension mit Hilfe einer Metallsonde direkt in den Magen. Nach einer in den Versuchen festgesetzten Verdauungszeit überprüfte ich den Darminhalt des Duodenums von 27 Mäusen mikroskopisch in Nativ- und nach GIEMSA gefärbten Präparaten auf Cysten.

Tabelle V

Prüfung des Duodenum-Inhaltes auf Cysten

MAUS Nr.	SERIE / VERDAUUNGSZEIT (MIN.)				
	A/5 (325)	B/10 (375)	C/15 (225)	D/30 (225)	E/45 (275)
1	N-	N-	N-	N-	N-
2	N-	N-	N-	N-	N-
3	N-	N-	N-	N-	N-
4	N-	N-	N-	N-	N-
5	N-	N-	N-	N-	N-
6	G-	G-			

In der Tabelle bedeutet:

Zahlen in Klammern = Infektionsdosis (Anzahl der verfütterten Cysten)

N- = keine Cysten im unfixierten Frischpräparat gefunden

G- = keine Cysten im nach GIEMSA gefärbten Präparat gefunden

Trotz relativ hoher Infektionsdosis wurden im Duodenum nie Cysten gesehen. Entweder gelangen überhaupt keine intakten Cysten mit den einzelnen Chymusschüben in den Darm oder aber ihre Hüllen werden beim Eintritt in den

meist schwach alkalischen Bereich des Duodenums sofort aufgelöst (s. Diskussion S. 75 ff).

Nach eigenen Messungen (mit Hilfe einer Chinhydronelektrode) ist der pH-Wert des Inhaltes des Duodenums bei den einzelnen Versuchstieren sehr unterschiedlich und schwankt vom fast neutralen Bereich (7,3) bis zum schwach alkalischen (8,1) in den ersten Abschnitten des Duodenums, wobei bei der Mehrzahl der Versuchstiere der schwach alkalische Bereich überwiegt. Bei diesen Messungen wurden nur hungernde (16-19 Stunden) Tiere untersucht. Da der Darminhalt bei den Messungen der Luft ausgesetzt war, ist eine Autolyse der Enzyme usw. nicht auszuschließen, d.h. die erhaltenen pH-Werte werden wahrscheinlich um einige Zehntel zu sauer sein.

Erwähnt seien hier auch in-vitro-Kontrollversuche, bei denen 0,5 ml einer Hirnsuspension (1 ml enthielt ca 250 Cysten) mit 0,5 ml einer 1 %igen Trypsinlösung (Difco 1:250 in 0,85 %iger NaCl-Lösung, Angaben nach JACOBS, 1960 b; s.S. 21) vermischt und unter Rühren bei 37°C 30 Minuten lang aufbewahrt wurden. Trotz langwieriger mikroskopischer Nachprüfungen blieb die Suche nach Cysten erfolglos.

Wie in den Voryersuchen (s.S. 41 ff) bereits festgestellt worden ist,verläuft eine Infektion mit cystenhaltigem Material nach Verfütterung der Cysten mit einer Magensonde immer erfolgreich, d.h. nach einer gewissen Zeit können aus dem Hirn der Versuchstiere Cysten isoliert werden. Die Parasiten müssen also vom Magen aus in das Gehirn gelangt sein, um sich dort zu encystieren.

Weiter ist bereits festgestellt worden, daß eine Wanderung der Toxoplasmen durch die Magenwand hindurch offensichtlich nicht stattfindet. Um in die Organe und das Hirn zu gelangen, müssen die Parasiten also die Darmwand passieren. Deshalb müßten sie in der Darmwand und nach einiger Zeit auch im Blut und in den Organen nachgewiesen werden können.

Die folgenden Versuche sollten zur Klärung beitragen, wie lange der Darminhalt nach einmaliger Fütterung infektiös bleibt, wie weit sich die Toxoplasmen innerhalb des Darmtraktes als lebensfähig erweisen und an welcher Stelle der Darmwand die Invasion der Parasiten erfolgt.

Da der histologische Nachweis von Toxoplasmen nur sehr schwer gelingt (WERNER, 1966 b), weil bis heute eine spezifische Färbung der Parasiten fehlt, durch die sie sich leicht von umgebenden Zellbestandteilen (Kerntrümmer usw.) abgrenzen ließen, wurde auf die Histologie in den folgenden Experimenten verzichtet. Ihre Prüfung erfolgte durch eine künstliche Infektion bei Mäusen.

Als ein weiterer Beweis der Versuchsergebnisse könnte die Methode der fluoreszierenden Antikörper dienen, die in einzelnen Fällen auch angewendet wurde.

Die Experimente erstreckten sich auf das Duodenum, die mittleren und hinteren Abschnitte des Jejunums und auf das Ileum, wobei ich insgesamt 35 bis 38 cm des Dünndarms untersuchte, die ich in 3 große Versuchsgruppen aufteilte. Vernachlässigt wurden Stücke des Jejunums, da von diesen Teilen keine abweichenden Versuchsergebnisse erwartet werden konnten, wie aus den nachfolgend angeführten Ergebnissen deutlich wird. Die Anzahl der Versuchstiere betrug 150, deren Gesamtzahl sich durch Überimpfen von je 1 Versuchstier auf je 3 gesunde Mäuse und nicht infizierte Kontrolltiere auf insgesamt 1058 belief.

Die Cystenzahl (in 0,5 ml befanden sich ca 125 Cysten) der für die Experimente verwendeten Gesamtaufschwemmung des Hirnmaterials wurde mikroskopisch festgestellt. Die Mäuse infizierte ich mit der auf Seite 31 beschriebenen Sonde. Nach einer in den Versuchen festgesetzten Verdauungszeit tötete ich die Tiere einzeln, präparierte das zu untersuchende Darmstück heraus, schwemmte den Inhalt mit 1 ml physiologischer Kochsalzlösung auf und überimpfte diesen auf je 3 Mäuse.

Das mit einer Schere in seiner gesamten Länge geöffnete Darmstück wurde in 6 verschiedenen mit NaCl-Lösung als Waschflüssigkeit gefüllten Petrischalen gewaschen, die nach jedem Darmstück gewechselt wurden. Zwischen jedem Waschen in den einzelnen Schalen wurde das Darmstück auf beiden Seiten mit Fließpapier abgetupft. Je nach Länge der zu untersuchenden Darmwand wurde sie nach Zerkleinerung mit 1 oder 2 ml physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und auf jeweils 3 Mäuse überimpft. Um festzustellen, ob die Infektion wirklich von der verimpften Darmwand herrührt, ist ein ausreichendes und häufiges Waschen unerlässlich gewesen. Wie Kontrollversuche ergeben haben, kann eine Infektion auch durch sich in den krypten der Darmzotten befindlichen Parasiten hervorgerufen werden, die dann ein positives Ergebnis bei Verimpfung des Darmwandgewebes vortäuschen können.

Die intraperitoneal infizierten Mäuse wurden nach ungefähr 4 Wochen getötet, durch Herzpunktion entblutet und ihre Hirne mikroskopisch auf Cysten in der bereits beschriebenen Weise untersucht. Die Blutseren prüfte ich im SABIN-FELDMAN-Test auf gebildete Toxoplasma-Antikörper.

Untersuchungen am Duodenum:

Da der Dünndarm von jeder zu untersuchenden Maus verschiedenen lang war, wurden jeweils 7 cm lange Darmstücke untersucht, um die Ergebnisse besser vergleichen zu können. Obgleich das zweite 7 cm lange Darmstück nach dem Pylorus bei manchen Versuchstieren nicht nur die letzten Abschnitte des Duodenums, sondern bereits die ersten des Jejunums umfaßte, wurden dennoch 7 cm des Darms untersucht, um möglichst die gleiche Menge des Darmgewebes und des Darminhaltes wie in der ersten Versuchsserie zu verimpfen.

Da nach einer Verdauungszeit von 4 Stunden (s. Tabellen VI + VII) der Darminhalt von fast allen Versuchstieren bei beiden Darmstücken noch positiv war und die Darmwand des zweiten Stückes gerade nach einer 3- bzw. 4-stündigen Verdauungszeit bei allen Tieren positiv wurde, sollte in weiteren Versuchen festgestellt werden,

wie lange der Darminhalt bzw. die Darmwand positiv bleiben.

Dazu wurden 6 hungrige Mäuse mit einer Hirnsuspension per os infiziert. Die Tiere erhielten nach der Infektion Spreu in die Keffige, Wasser und Standard-Diät-Futter, das sie sofort annahmen. 3 von ihnen wurden nach 24 Stunden getötet und 3 nach 73 Stunden. Bei beiden Versuchsgruppen wurden die ersten 14 cm Dünndarm nach dem Pylorus herauspräpariert (um die Erreger in den Versuchstieren möglichst anzureichern), das Darmstück von außen abgewaschen (um eventuell bereits außerhalb des Darmtraktes sich befindende Toxoplasmen zu entfernen), der Länge nach geöffnet, der Darminhalt mit 2 ml NaCl-Lösung herausgespült und auf je 3 Mäuse verimpft. Bei keinem der Versuchstiere sah ich nach mikroskopischer Prüfung in der Bauchhöhlenflüssigkeit Toxoplasmen. Nachdem ich die Darmwand in der bereits beschriebenen Weise gewaschen und zerkleinert hatte, wurde sie ebenfalls mit 2 ml physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und auf je 3 Mäuse gespritzt.

In den folgenden Tabellen bedeutet die Bezeichnung "positiv", daß ich in den Blutseren eindeutig Antikörper nachwies und in den Hirnen Cysten fand. Häufig waren die Infektionen nur sehr gering, so daß die Tiere höchstens einen Titer von 1:16 aufwiesen. Cysten konnten in solchen Fällen oft erst nach langem Suchen gefunden werden. Aber nicht immer bedeutete eine geringe Titerhöhe eine kleine Anzahl von Cysten. Einmal wurden z.B. 54 Cysten unter einem Deckglas bei einem Titer der Maus von 1:16 gezählt. Dagegen wurden oft nur sehr wenige Cysten (eine in 12-13 durchmusterten Präparaten) bei einem relativ hohen Titer gefunden (hierzu auch REMINGTON et al., 1960; GUILLMO et al., 1960).

Als "negativ" wurde ein Versuchsergebnis bezeichnet, wenn die Seren keine Antikörper im SABIN-FELDMAN-Test zeigten und auch im Gehirn keine Cysten nachgewiesen werden konnten.

Tabelle VI

Erstes 7 cm langes Darmstück nach dem Pylorus

DARMINHALT

Maus (0,5 ml per- oral) Nr.	Serie / Verdauungszeit (Minuten)						
	A/15	B/30	C/45	D/60	E/120	F/180	G/240
1	a +	p	p	p	p	n	+
	b p	p	p	p	p	n	p
	c p	n	+	p	p	n	p
2	a p	+	p	+	p	p	n
	b p	p	p	p	p	p	p
	c p	p	p	p	p	n	p
3	a p	+	p	p	p	p	n
	b p	p	p	p	p	p	p
	c p	p	+	p	p	p	n
4	a p	p	p	p	p	p	p
	b p	p	p	p	p	p	p
	c p	p	p	p	p	p	p
5	a p	p	p	p	n	p	p
	b p	p	p	p	p	n	p
	c p	p	+	p	p	p	p
6	a p	+	p	p	p	n	+
	b p	p	p	p	p	n	p
	c p	p	p	p	p	p	p
Gesamtzahl der Mäuse mit pos. Bef.	17 (1+)	14 (3+)	15 (3+)	17 (1+)	17	11	13 (2+)
Anzahl der inf. Darm- inhalte	6	6	6	6	6	5	6
<u>DARMWAND</u>							
1	a n	p	n	p	n	n	+
	b p	p	n	p	n	n	p
	c p	p	n	p	p	n	p
2	a p	p	p	p	p	n	n
	b p	n	p	p	n	p	p
	c p	p	p	p	p	n	n
3	a n	p	p	p	p	n	n
	b p	p	p	p	p	n	n
	c n	n	p	p	n	p	n
4	a p	p	p	p	n	n	n
	b p	n	p	p	n	p	n
	c p	n	p	p	n	n	p
5	a p	p	p	p	p	n	n
	b p	+	p	p	n	n	n
	c p	p	n	p	n	n	n
6	a n	p	p	p	p	n	+
	b n	p	p	p	n	n	p
	c n	n	p	p	p	n	p
Gesamtzahl der Mäuse mit pos. Bef.	12	12 (1+)	14	18	8	3	6 (2+)
Anzahl der inf. Darm- wände	5	6	5	6	5	3	4

Tabelle VII

Zweites 7 cm langes Darmstück nach dem Pylorus

DARMINHALT

Maus (0,5 ml per oral) Nr.	Serie / Verdauungszeit (minuten)						
	A/15	B/30	C/45	D/60	E/120	F/180	G/240
1	a +	+	+	p	p	+	n
	b p	+	+	p	p	p	n
	c p	+	p	n	p	p	n
2	a p	+	+	p	p	p	n
	b +	+	p	p	p	p	p
	c p	p	p	p	p	p	p
3	a p	+	p	+	p	p	+
	b p	+	p	p	p	p	p
	c n	p	p	p	n	p	p
4	a +	p	p	p	p	p	p
	b p	p	p	p	p	p	p
	c p	p	p	p	p	p	p
5	a p	+	p	p	+	+	p
	b p	+	p	p	p	n	p
	c p	+	p	p	p	p	p
6	a p	+	p	p	p	+	n
	b p	p	p	p	p	p	p
	c p	p	p	p	p	p	n
Gesamtzahl der Mäuse mit pos. Bef.	14 (3+)	7(1+)	15(3+)	16(1+)	16(1+)	14(3+)	11(1+)
Anzahl der inf. Darm- inhalte	6	6	6	6	6	6	5

DARMWAND

1	a p	n	p	p	n	p	n
	b n	n	n	n	n	p	n
	c n	n	n	n	n	p	n
2	a p	+	n	n	n	p	p
	b p	+	n	n	n	p	n
	c n	p	n	n	n	p	n
3	a n	n	p	p	p	p	n
	b n	p	p	n	n	p	n
	c n	p	p	n	n	p	p
4	a p	+	n	n	p	n	p
	b p	p	n	n	n	n	p
	c p	n	n	n	n	p	p
5	a n	p	n	n	p	p	n
	b n	n	n	n	n	n	n
	c n	p	n	n	n	n	p
6	a p	+	+	n	n	p	n
	b p	+	p	n	n	n	n
	c n	n	p	p	n	p	n
Gesamtzahl der Mäuse mit pos. Bef.	8	6(5+)	7(1+)	4	3	13	7
Anzahl der inf. Darm- wände	4	4	4	3	3	6	5

In den Tabellen VI und VII bedeutet:

p = positiv

n = negativ

+ = gestorbene Tiere

V Versuchsergebnisse:

Die Auswertung der Versuchsergebnisse am Duodenum erfolgte nach der bereits erwähnten Zeit und Methode.

Bei den kurzen Verdauungszeiten, besonders bei den Versuchen am zweiten Darmstück, starben nach intraperitonealer Verimpfung des Darminhaltes sehr viele Mäuse unter Anzeichen einer akuten Toxoplasmose, epidemieartig meist zwischen dem siebenten und zehnten Tag post infectionem. Um festzustellen, ob der Darminhalt ohne Parasiten irgendeine toxische Wirkung auf die Tiere hatte, wurden die Untersuchungen am Duodenum (Verdauungszeit 15 und 30 Minuten) in der gleichen Weise nochmals durchgeführt, wobei aber die verfütterte Hirnsuspension von gesunden Tieren stammte. Vier Wochen lang wurden 52 Mäuse mit Kontrolltieren beobachtet. Innerhalb dieser Zeit starb keines der Tiere. Es kann also angenommen werden, daß eine toxische Wirkung des Darminhaltes für die hohe Sterberate nicht verantwortlich ist, sondern daß sie allein auf der Wirkung der Parasiten beruht.

Der Darminhalt erwies sich für die Mäuse als sehr infektiös, wobei die Infektionsfähigkeit innerhalb des Zeitraumes der Untersuchungen (4 Stunden) nahezu konstant blieb. Für die beiden Darmstücke ergaben sich keine Unterschiede. Auch nach 24 und 73 Stunden war der Darminhalt bei allen infizierten Mäusen noch positiv.

Bei den Untersuchungen der Darmwand ist auffällig, wie schnell die Toxoplasmen in das Gewebe eindringen. Bereits nach 15 Minuten konnten aus 5 bzw. 4 Wänden Parasiten isoliert werden (s. Diskussion S. 76).

Die beiden untersuchten Darmwandstücke wiesen im Eindringen der Parasiten Unterschiede auf. Beim ersten Darmstück findet man ein proportional zur Verdauungszeit kontinuierliches Ansteigen der infizierten Mäuse, dessen Maximum nach 60 Minuten erreicht ist. Hier haben sich alle Versuchstiere mit dem verimpften Gewebe infiziert. In der Zeit von 60 bis 180 Minuten sinkt von je 6 Wänden die

Zahl der infizierten Wände auf 50% und die Anzahl der infizierten Mäuse auf nur 17% ab.

Da ich die Mäuse mit nur wenig fester Nahrung gefüttert hatte, war der Magen, wie aus den Versuchen auf Seite 44 hervorgeht, schon nach 2 Stunden fast leer, so daß nur noch wenige Parasiten zwischen 2 und 3 Stunden Verdauungszeit in den Darm gelangten (in dieser Zeit ist daher auch eine Abnahme der Zahl der infizierten Mäuse zu verzeichnen). Daher ist die etwas höhere Anzahl der gefundenen infektiösen Darmwände nach 4 Stunden bemerkenswert. Dies läßt auf eine nachträglich eintretende Vermehrung der Parasiten in der Darmwand schließen.

Beim zweiten Darmstück dringen die Parasiten zwar wie bereits erwähnt auch in sehr kurzer Zeit in die Darmwand ein, aber die Invasion ist nicht so massiv wie beim ersten Duodenalabschnitt, das ist aus der geringeren Anzahl infizierter Mäuse ersichtlich. Auch hier ist ein plötzlicher Anstieg der infizierten Darmwände nach 3 bzw. 4 Stunden zu verzeichnen, wobei die Zahl der infizierten Mäuse bei 3 Stunden ein Maximum erreicht, das noch über dem der kurzen Versuchszeiten liegt. Es müssen sich nun viel mehr Parasiten in der Darmwand befinden als bei den kürzeren Verdauungszeiten. Da aber der Magen der infizierten Mäuse nach 2 bis 3 Stunden geleert ist (s.S. 44), werden mit den letzten Chymusschüben sicher nicht mehr viele Parasiten in den Darm gelangen, so daß eigentlich eine Abnahme der sich in der Wand befindlichen Parasiten zu erwarten gewesen wäre. Ein Teil der Parasiten scheint also die Darmwand nicht gleich zu verlassen, sondern sich vor allem in den hinteren Duodenalabschnitten besonders stark zu vermehren. Nach 24 bzw. 73 Stunden ist von den 6 infizierten Mäusen jeweils bei 2 Tieren die Darmwand positiv gewesen.

Untersuchungen am Mittelabschnitt des Jejunums:

Untersucht wurde ein 7 cm langes Darmstück aus dem mittleren Teil des Jejunums, das in der bereits beschriebenen Weise (s. S. 53 ff.) behandelt wurde.

Tabelle VIII

Mittelabschnitt des Jejunums

DARMINHALT

Maus (0,5 ml per- oral) Nr.	Serie / Verdauungszeit (Minuten)				
	A/15	B/30	C/45	D/60	E/120
1	a p	p	+	+	+
	b p	p	+	+	p
	c p	p	p	p	p
2	a p	+	+	+	+
	b p	p	+	p	p
	c p	n	+	p	n
3	a p	p	+	+	+
	b p	p	+	+	+
	c p	p	+	p	p
4	a +	+	+	+	+
	b +	+	+	+	p
	c p	+	p	+	p
5	a p	p	+	+	p
	b p	+	+	+	p
	c p	p	p	+	p
6	a +	+	+	+	+
	b p	+	+	+	+
	c p	+	+	+	p
Gesamtzahl der Mäuse mit pos. Bef.	15 (3+)	9 (8+)	3 (17+)	4 (14+)	10 (7+)
Anzahl der inf. Darm- inhalte	6	6	6	6	6

DARMWAND

1	a p	n	+	n	p
	b n	n	p	n	n
	c n	n	p	n	n
2	a n	n	n	n	p
	b n	n	n	n	n
	c n	p	n	n	n
3	a n	n	n	n	n
	b n	n	n	n	n
	c n	n	n	n	n
4	a n	+	n	n	n
	b n	n	p	n	n
	c n	n	p	n	n
5	a n	n	n	n	p
	b n	n	n	n	n
	c n	p	n	p	n
6	a n	+	n	p	n
	b n	n	n	n	n
	c n	p	p	n	n
Gesamtzahl der Mäuse mit pos. Bef.	1	3 (2+)	5 (1+)	2	3
Anzahl der inf. Darm- wände	1	3	3	2	3

In der Tabelle VIII bedeutet:

p = positiv

n = negativ

+ = gestorbene Tiere

Versuchsergebnisse:

Beim Verimpfen des Darminhaltes starben bei allen Verdauungszeiten fast alle infizierten Versuchstiere, epidemieartig, unter Anzeichen einer akuten Toxoplasmose 7 bis 8 Tage nach der Infektion.

Um eine toxische Wirkung des Darminhaltes allein auf die Mäuse ausschließen zu können, wurde der gleiche auf Seite 58 bereits beschriebene Kontrollversuch auch für dieses Darmstück für die Verdauungszeiten 15, 30,45 und 60 Minuten an 48 Mäusen durchgeführt.

Nach einer vierwöchigen Beobachtungszeit war keines der Tiere gestorben. Auch bei diesem Darmstück hatte der Inhalt keine toxische oder nur schwächende Wirkung auf die Mäuse ausgeübt. Die in dem Versuch gestorbenen Mäuse mußten also an einer akuten Toxoplasmose eingegangen sein, wofür ihr äußeres Krankheitsbild sprach (struppiges Fell, Diarrhoe, Pneumonie). Außerdem ließen sich in einigen Tieren post mortem Toxoplasmen nachweisen. Aus diesem Grund wurden in der Tabelle auf der vorhergehenden Seite alle gestorbenen Tiere als infiziert angesehen.

Ogleich noch sehr viele Parasiten in dem Darmlumen dieses Abschnittes vorhanden waren, drangen wenige Parasiten in die Darmwand ein. Die Infektionsstärke blieb über die gesamte Versuchsdauer fast unverändert erhalten und war mit 1-6 infizierten Mäusen (von 18 Tieren) relativ gering.

Untersuchungen am Endabschnitt des Jejunums und des Ileums:

Da die Versuchstiere nicht alle das gleiche Gewicht und die gleiche Größe hatten, variierte das untersuchte Darmstück in seiner Länge. Es war im Durchschnitt ca 15 cm lang und wurde an der Einmündung des Caecums in das Ileum abgetrennt.

Die Mäuse wurden nach der auf Seite 53 ff beschriebenen Methode infiziert und untersucht. Die Verdauungszeit betrug 3 Stunden. Bei Verimpfen des Darminhaltes von 6

Mäusen auf 18 Tiere infizierten sich alle Tiere. Viele Versuchstiere starben an einer akuten Toxoplasmose. Sie wurden aus den bereits erwähnten Gründen als positiv betrachtet.

Nur sehr wenige Parasiten drangen in die Darmwand ein, so daß sich nur 2 der 6 Darmwände als infektiös erwiesen, wobei von diesen 2 positiven Darmwänden jeweils nur 1 bzw. 2 Abimpfungen (von je 3) Parasiten enthielten.

Zusammenfassend sei festgestellt, daß die Toxoplasmen über die gesamte Länge des Dünndarms lebensfähig bleiben, wobei offensichtlich ihre toxische Wirkung für Mäuse erhöht wird (siehe hohe Sterberate bei den einzelnen Experimenten). Sie scheinen eine starke Affinität zu dem Gewebe des Duodenums zu haben, in das sie innerhalb 1 Stunde eindringen. In den Endabschnitten des Duodenums scheint nach 3-4 Stunden eine leichte Vermehrung der Parasiten einzusetzen, wobei nicht untersucht worden ist, ob die Vermehrung in den Darmzellen oder in den Lymphfollikeln stattfindet (s. Diskussion S. 77). Aus den Ergebnissen der Untersuchungen an den anderen Dünndarmabschnitten ist zu entnehmen, daß die Erreger die Darmwand noch befallen, aber in wesentlich geringerem Maße als die des Duodenums.

Dickdarm

Der Dickdarm besteht aus Caecum, Colon und Rectum, wobei der Blinddarm ca 3 cm und der Grimmdarm ca 12 cm lang sind. Das Colon gliedert sich in das Colon ascendens und das Colon descendens, das ohne Abgrenzung in das Rectum übergeht.

Wie sich aus den Untersuchungen am Dünndarm ergab, waren die Toxoplasmen über seine gesamte Länge nachweisbar, lebens- und infektionsfähig, so daß ich Experimente am Dickdarm für nötig erachtete.

Außerdem sind in der Literatur sehr widersprüchliche Angaben darüber zu finden, ob lebende Toxoplasmen mit dem Kot ausgeschieden werden können (s. S. 17) und ob

eine Ansteckung durch infizierte Fäkalien (s. S. 24) oder das Zusammenleben von gesunden und kranken Tieren (s. S. 16) möglich ist. Nach eigenen Beobachtungen fressen die Mäuse häufig Kot. Bei allen Versuchsreihen steckte sich aber nie eine gesunde Maus an, die mit mit Toxoplasmen infizierten Mäusen in einem Käfig zusammenlebte. Um die bereits oben erwähnten Widersprüche in der Literatur vielleicht klären zu können, wurden die Mäuse in den folgenden Versuchen nicht nur intraperitoneal mit Kot infiziert, sondern der Kot wurde ihnen auch mit Hilfe einer Magensonde verfüttert.

Für die Experimente wurden 6 hungrige Mäuse peroral mit der auf Seite 31 beschriebenen Sonde infiziert und nach der Infektion mit Standard-Diät-Futter und Wasser gefüttert.

Nach 24 Stunden wurden 3 von ihnen getötet und ihr Grimm- und Mastdarm herauspräpariert. Zur Untersuchung gelangte aber nur das Colon descendens und das Rectum, da vor allem der Kot untersucht werden sollte.

Der Inhalt jedes dieser 3 Darmstücke wurde mit 3 ml einer Antibiotica-Lösung (1 ml 0,85 %iger NaCl-Lösung + 1 mg Streptomycin + 800 i.E. Penicillin) aufgeschwemmt und durch Gaze filtriert. In Vorversuchen war festgestellt worden, daß diese Antibiotica-Lösung die Toxoplasmen in ihrer Lebensfähigkeit nicht beeinträchtigt, andererseits aber die Bakterien und Fäulniserreger im Kot abtötet, so daß er für Mäuse unschädlich wird.

1 ml des Filtrates wurde 2 Mäusen verfüttert und 2 weitere Tiere wurden intraperitoneal infiziert.

Die Wand jedes Darmstückes wurde in 6 verschiedenen mit NaCl-Lösung gefüllten Petrischalen gewaschen und zwischen jedem Waschen mit Filtrierpapier abgetrocknet. Das Papier und die Petrischalen wurden nach jedem Darmstück erneuert. Nach Zerkleinerung und Aufschwemmung des Gewebes in physiologischer Kochsalzlösung wurden je 2 Mäuse intraperitoneal mit der Suspension infiziert.

Die 18 Mäuse wurden nach 5 Wochen getötet, durch Herrpunktion entblutet und ihre Hirne steril entnommen. Bei allen Tieren konnten mikroskopisch keine Cysten und durch den SABIN-FELDMAN-Test keine Antikörper gegen Toxoplasmen nachgewiesen werden.

Wie sich aus den Versuchen ergab, sind die Toxoplasmen im Dickdarm 1 Tag nach der Infektion nicht nachweisbar und werden zu diesem Zeitpunkt nicht infektiösfähig mit dem Kot ausgeschieden, obgleich das Dünndarmlumen noch lebens- und infektiösfähige Erreger enthält (s. S. 58 und Diskussion S.78ff).

Die zweite Hälfte der per os infizierten Mäuse wurde nach 3 Tagen getötet und der Darminhalt des Duodenums und Jejunums intraperitoneal auf gesunde Mäuse verimpft. Durch die spätere Isolierung von Parasiten aus fast allen infizierten Tieren dürfte die Infektiösfähigkeit des verwendeten Hirnmaterials bewiesen sein.

Histologische Untersuchungen, die LAINSON (1954) am Darm von an akuter Toxoplasmose gestorbenen Mäusen (nach oraler Infektion) durchgeführt hatte, ergaben, daß sich im Gewebe des Blinddarms und Rectums sehr wenige Parasiten befanden und hier auch nur in der äußersten Muskelschicht, weshalb ich keine weiteren Versuche am Caecum durchführte.

b. Ausbreitung der Parasiten im Körper nach Verlassen der Darmwand

Von mehreren Autoren (LAVEN & WESTPHAL, 1950; RUCHMAN & FOWLER, 1951; LAINSON, 1954; JOSEPH et al., 1957; MØLLER, 1961; JACOBS, 1961; 1963; u.a.) sind verschiedene Hypothesen darüber aufgestellt worden, wie sich die Toxoplasmen im Körper des Wirtes nach erfolgter Infektion verbreiten und welche Bahnen sie benutzen. Dabei wird angenommen, daß immer der Weg über das lympho-hämatogene System begangen wird. Die meisten dieser Annahmen stützen sich auf Befunde, die sich nach einer intraperitonealen Beimpfung des Wirtstieres ergeben haben. Da es

sich hierbei um einen Weg handelt, der in der Natur niemals vorkommt, habe ich den Verlauf der Parasitämie nach oraler Infektion untersucht.

Die folgenden Versuche wurden an 15 Tieren durchgeführt, deren Zahl sich durch Überimpfen ihrer Organe, ihres Blutes und durch Kontrolltiere auf 265 Individuen erhöhte. Die 15 Versuchstiere wurden mit der auch für die anderen Experimente verwendeten Magensonde per os mit Hirnmaterial infiziert. Die Infektionsdosis betrug 100-150 Cysten pro Tier.

Da ich in den auf Seite 54 ff beschriebenen Versuchen festgestellt hatte, daß die Mehrzahl der Toxoplasmen innerhalb 1 Stunde in die Darmwand eindringt, andererseits aber noch nach 72 Stunden Erreger in der Darmwand nachweisbar sind, legte ich die nachstehenden Experimente innerhalb dieser Zeitspanne an.

a. Blut

Das Blut wurde von narkotisierten Tieren durch Herzpunktion gewonnen, mit 1 ml physiologischer Kochsalzlösung vermischt und möglichst noch warm gesunden Tieren (von 1 Versuchstier wiederum auf 3 gesunde Mäuse) injiziert, um ein Gerinnen des Blutes zu verhindern.

Ein Zusatz von Natriumzitrat, das gerinnungshemmende Wirkung auf das Blut hat, wurde vermieden, da Zitrat nach Angaben von FRITZ (1951) für Mäuse schädlich sein soll. Die Tiere starben in seinen Versuchen direkt nach dem Spritzen bzw. einige Stunden danach.

Wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich ist, konnten bis zu 24 Stunden keine Erreger im Blut nachgewiesen werden. Erst nach 3 Tagen ließen sie sich in großer Anzahl bei 2 von 3 Versuchstieren isolieren (vergleiche Diskussion S. 78).

Zeichenerklärung zu Tabelle IX:

p = positiv

n = negativ (s. S. 55)

Tabelle IX

BLUT

Maus (0,5 ml per os) Nr.	Serie / Verdauungszeit (Stunden)				
	A/2	B/3	C/4	D/25	E/73
1	n	n	n	n	p
	n	n	n	n	p
	n	n	n	n	p
2	n	n	n	n	n
	n	n	n	n	n
	n	n	n	n	n
3	n	n	n	n	p
	n	n	n	n	p
	n	n	n	n	p
Gesamtzahl der Mäuse mit pos. Bef.	0	0	0	0	6

B. Organe

Zur Untersuchung kamen vor allem die besonders stark durchbluteten Organe, wie Milz, Leber, Lunge. Zahlreichen Autoren ist es bisher gelungen, besonders aus diesen Organen die Parasiten bei einer akuten Erkrankung des Wirtes zu gewinnen. Weiter untersuchte ich das Hirn, um den frühesten Zeitpunkt festzustellen, zu dem die Toxoplasmen in diesem Organ auftreten.

Den bereits durch Herzpunktion entbluteten Mäusen entnahm ich die Organe steril, spülte sie in verschiedenen Petrischalen ab (um eventuell außen anhaftende Erreger zu entfernen), trocknete sie leicht mit Fließpapier und homogenisierte sie in einem Mörser. Nach Suspendierung in 1,5 ml physiologischer Kochsalzlösung filtrierte ich die Suspension durch Gaze, um größere Gewebestücke zu entfernen und impfte je 3 gesunde Mäuse mit dem Homogenisat von 1 Versuchstier intraperitoneal.

Nach 4 Wochen wurden die Mäuse getötet und wie auf Seite 54 beschrieben untersucht.

V Versuchsergebnisse:

Siehe dazu die Tabelle X auf der folgenden Seite.

Die Lunge erwies sich als das Organ, aus dem am frühesten Toxoplasmen isoliert werden konnten (nach 3 Stunden) und das am stärksten befallen wurde (siehe Sterberate nach 73 Stunden). Obgleich Milz und Leber

Tabelle X

ORGANE

<u>Organe</u>	<u>Maus</u>	<u>Serie / Verdauungszeit (h)</u>				
	(0,5 ml per os) Nr.	A/2	B/3	C/4	D/25	E/73
MILZ	1	n n n	n n n	n n n	+ n n	+ p p
	2	n n n	n n n	n n n	n n n	p p p
	3	n n n	n n n	n n n	n n n	p p p
	Gesamtzahl der Mäuse mit pos.Bef.	0	0	0	1(1+)	8(1+)
LEBER	1	n n n	n n n	n n n	n n n	+ p p
	2	n n n	n n n	n n n	n n n	p p p
	3	n n n	n n n	n n n	n n n	+ p n
	Gesamtzahl der Mäuse mit pos.Bef.	0	0	0	0	6(2+)
LUNGE	1	n n n	n n n	p p n	+ p p	+ + +
	2	n n n	n n n	n n n	n n n	p p p
	3	n n n	p p p	+ n n	n n n	+ p p
	Gesamtzahl der Mäuse mit pos.Bef.	0	3	2(1+)	2(1+)	5(4+)
HIRN	1	n n n	n n n	n n p	n n n	n n n
	2	n n n	n n n	n n n	n n +	n n n
	3	n n n	n n n	n n n	n n n	n n p
	Gesamtzahl der Mäuse mit pos.Bef.	0	0	1	0(1+)	1

Zeichenerklärung für Tabelle X:

p = positiv n = negativ + = gestorbene Tiere
(vergleiche S. 55)

Gegen die erste Annahme sprechen Untersuchungen von SCHMIDTKE (1956) und vieler anderer Autoren, die nach intraperitonealer Verimpfung des Futters festgestellt haben, daß die Futterkontrollen infektiösfähig waren.

Die zweite Annahme wird durch Experimente ebenfalls von SCHMIDTKE (1954 a) gestützt, nach denen Toxoplasmen, die bei 37°C mit Magensaften von verschiedener Herkunft gehalten worden sind, bei pH-Werten von 3,1 bis 1,1 nach 20 Minuten abgestorben waren. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen andere Autoren (HOLZ & BRINGMANN, 1953; WILDFÜHR, 1956; u.a.). Da bei der Futteraufnahme einerseits immer nur geringe Mengen der Parasiten in den Magen gelangen, andererseits aber gerade durch die Nahrungsaufnahme verstärkt Magensaft sezerniert wird, könnte die abgeschiedene Menge HCl und Pepsin genügen, um die Erreger abzutöten, wenn ihre Anzahl nicht zu groß ist.

Die mit der Sonde verabreichte Parasitenmenge im Exsudat war wahrscheinlich zu hoch, als daß sie restlos durch die verdauende Wirkung des Magensaftes hätte zerstört werden können, der außerdem in nur geringer Menge und Konzentration als Nüchternsaft vorhanden war. Durch die verlängerte Lebensdauer der Versuchstiere gegenüber den intraperitoneal infizierten Kontrollen zeigte sich, daß wohl die meisten Parasiten im Magen abgetötet worden sind und daß daher die Infektion viel schwächer war. Auch SMETANA & HEYBERGER (1962) verzeichneten ein ähnliches Ergebnis bei ihren Versuchen. Aber dennoch konnten bei der schnellen Magenpassage der Flüssigkeit genügend viele Toxoplasmen den Darmtrakt ungeschädigt erreichen, um von dort aus eine Infektion hervorzurufen. Nach Angaben verschiedener Autoren sollen ja bereits 1 bis 10 Einzelparasiten von für Mäuse hochvirulenten Stämmen - allerdings nach intraperitonealer Verimpfung - bei den Versuchstieren eine tödliche Infektion hervorrufen (JACOBS, 1953; VISCHER & SUTER, 1954; RUMINGTON, 1961; DE ROEVER-BONNET, 1963).

Die Möglichkeit, daß in genügend großer Anzahl verabreichte freie Toxoplasmen bei der Passage durch den Magen

teilweise überleben können, wird durch KOZAR et al. (1952) bestätigt. Hier läge auch die Erklärung für die Ergebnisse von WILDFÜHR (1956/57), der bei seinen Sondenversuchen an Goldhamstern bis zu einer Verdünnung des Exsudates von 1:100 000 positive Werte erhielt. Auch bei SMETANA und Mitarbeiter (1962) infizierten sich 50% aller Versuchstiere (weiße Mäuse), denen sie reines Exsudat zu trinken gegeben hatten. NAKAJYO & SENGUO (1956) erzielten erst mit 4×10^4 Toxoplasmen eine orale Infektion bei Mäusen. Ebenso wäre das eine Erklärung für die positiven Ergebnisse von STRASSMANN (1964) und SMETANA & HEYBERGER (1962), die pseudocystenhaltiges Gewebe von Milz und Leber verfüttert hatten. Gerade diese Organe beherbergen aber besonders viele Parasiten.

Da es sich bei dem mit der Sonde verabreichten infektiösen Hirnmaterial um einen flüssigen Brei handelte, verblieb er längere Zeit im Magen, wodurch die Sezernierung von Salzsäure und Verdauungsfermenten angeregt wurde. Die kleine Anzahl der in der Suspension enthaltenen Parasiten wurde von dem angreifenden HCl-Pepsin-Milieu so geschädigt, daß die Erreger ihre Infektionsfähigkeit verloren.

Nach VAN THIEL & VAN DER WAAIJ (1956) gibt es als Erklärung für eine per-os-Infektion mit freien Toxoplasmen die folgenden Möglichkeiten:

1. Das Eindringen der Toxoplasmen durch kleine Verletzungen in den Mundschleimhäuten, der Mucosa der Kehle oder des Ösophagus.
2. Das Eindringen der Toxoplasmen durch die intakte Mucosa des Verdauungstraktes vor dem Magen.
3. Das Überleben von freien Toxoplasmen bei der Passage durch den Magen.

Wie bereits erwähnt wird die dritte Möglichkeit durch Versuche von KOZAR et al. (1952) gestützt und durch die eigenen Versuchsergebnisse ebenfalls bestätigt, vorausge-

setzt allerdings, daß die Anzahl der Parasiten recht groß ist. Es erscheint jedoch sehr fraglich, ob gerade der dritte Weg eine natürliche Infektionsquelle darstellt, da wohl in den seltensten Fällen eine so große Zahl von Erregern vom Wirt aufgenommen wird, wie sie in den Versuchen verwendet worden ist.

Abschließend sei erwähnt, daß sowohl der Trophozoit, als auch die Proliferationsform wohl zu wenig resistent gegen den Magensaft sind, als daß sie in der Regel als Infektionsquelle anzusehen sind. Positive Infektionsergebnisse wurden ja nur dann erhalten, wenn sie unter für den Parasiten äußerst günstigen Bedingungen durchgeführt worden sind.

Die Hauptuntersuchungen in dieser Arbeit wurden mit Material ausgeführt, das mit cystenbildenden Toxoplasmen infiziert war.

JACOBS et al. (1960 b) stellten in ihrer Arbeit über die Widerstandsfähigkeit der encystierten Form von *Toxoplasma gondii* fest, daß sich die Wand von Cysten aus Rattenhirnen, die sie vom umgebenden Gewebe befreit hatten, in einem künstlichen HCl-Pepsin-Milieu (pH 1,5-1,9) sofort auflöst. Diesen in-vitro-Versuchen von JACOBS et al. stehen Ergebnisse von VAN THIEL & VAN DER WAAIJ (1956) entgegen, die im Magen von Mäusen noch nach 30 Minuten Verdauungszeit Cysten wiedergefunden haben. Auch die eigenen in-vivo-Versuche stehen im Gegensatz zu den Befunden von JACOBS et al.. Wie bereits auf Seite 46 ausführlich beschrieben worden ist, fand ich noch nach 45 Minuten Verdauungszeit völlig erhaltene Cysten.

Dieser Gegensatz läßt sich nur so erklären, daß offensichtlich schon das die Cysten nur locker umgebende, sehr eiweißhaltige Hirnmaterial das Angreifen des Verdauungssaftes erschwert. Eine klare Aussage über seine Azidität läßt sich nicht leicht machen, da sie beim natürlichen Verdauungsvorgang laufend wechselt. Das im Moment der Nahrungsaufnahme zweifellos vorhandene Säuredefizit (nach eigenen Untersuchungen schwankt der pH-Wert des

Nüchternsaftes von seit ca 24 Stunden hungernden Mäusen zwischen 3,4-3,9) wird jedoch sofort laufend durch die Sekretion der Fundusdrüsen ausgeglichen, wodurch die Azidität des Magensaftes trotz Zusatz von Geweben (naturgemäß Verschiebung des pH-Wertes nach der alkalischen Seite) steigt. Nach Angaben von NAKAJYO et al. (1956) schwankt der pH-Wert des Magensaftes von gesunden Mäusen zwischen 1,2-4,2. Meist wurde von den Autoren jedoch ein Mittelwert von 2,8 gefunden, der also wie der Nüchternsaft bedeutend weniger sauer als der des künstlichen HCl-Pepsin-Milieus von JACOBS et al. war.

Das Eiweiß wird durch den Magensaft ausgefällt, könnte die Cysten dann hüllenartig umgeben und deren Wand vor der sofortigen Auflösung durch den Magensaft schützen. Dafür spricht auch der Cystenfund nach 90 Minuten Verdauungszeit, bei dem die Cyste in einem zufällig nicht zerschüttelten Stückchen Gewebe eingebettet und noch gut erhalten war.

Das würde auch einem weiteren Ergebnis von JACOBS & MELTON (1957 b) entsprechen, das sie durch Versuche mit mazerierten Rattenhirnen erhielten. Danach überlebten die Parasiten (Cysten des RH-Stammes) 3 Stunden lang die verdauende Einwirkung der HCl-Pepsin-Lösung, während die isolierten Cysten ihre Infektionsfähigkeit für Mäuse nur bis 90 Minuten Einwirkzeit des künstlichen Verdauungsaftes behielten. Auch die weiteren eigenen Untersuchungen, in deren Verlauf der Mageninhalt einer infizierten Maus nach verschiedenen Verdauungszeiten auf gesunde Mäuse verimpft wurde, haben gezeigt daß er noch nach 2 Stunden Infektionen in den Versuchstieren hervorrufen kann. Bei dieser Verdauungszeit wurden nie Cysten gesehen. Entweder befanden sich im Magen nur noch so wenige Cysten, daß sie mit einer Kontrolle durch das Mikroskop nicht mehr erfaßt werden konnten oder der Mageninhalt enthielt nur noch gegen den Magensaft resistente Einzelparasiten, die mikroskopisch sehr schwer zu erkennen sind.

Für die zweite Annahme spricht der Umstand, daß bei den längeren Verdauungszeiten die Zahl der aufgefundenen Cysten

gegenüber der verimpften Anzahl stark abgenommen hatte, der Mageninhalt sich aber bei späterem Verimpfen als für Mäuse hochgradig infektiös erwies (siehe hohe Sterberate der Mäuse bei 15 und 45 Minuten Verdauungszeit, Seite 49). Vor allem das bereits alkalische Sekret der Pylorusdrüsen in der Pars pylorica scheint die Cystenwand anzugreifen und sie möglicherweise aufzulösen. Diese Annahme wird auch durch den Befund gestützt, daß in dem Duodenum nie Cysten gesehen worden sind.

Da von vielen Autoren und in eigenen Versuchen nachgewiesen worden ist, daß die Trophozoite vom Magensaft im allgemeinen rasch zerstört werden, müßten die aus den Cysten stammenden Einzelparasiten einen anderen physiologischen Zustand aufweisen. Nach ihrem Habitus ähneln sie den freien Formen sehr. Sie lassen sich aber von ihnen unterscheiden, da sie viel kleiner als diese sind. Nach elektronenoptischen Untersuchungen von KIKKAWA et al. (1964) soll die Matrix der Parasitenzelle am hinteren Ende mit größeren Granula (60 Å) angefüllt sein, die wahrscheinlich aus Glykogen bestehen, während die freien Formen nur wenige kleine Granula zeigen.

Ogleich die Cystenhülle im Magen möglicherweise aufgelöst wird und die Einzelparasiten dadurch frei werden, scheinen sie im allgemeinen nicht in die Magenwand einzudringen, um von hier aus den übrigen Körper zu überschwemmen. Die wenigen positiven Funde in der Magenwand könnten durch die Beobachtungen von HILGENFELD (1964) erklärt werden, der bei toten Känguruhs festgestellt hat, daß Defekte in dem Epithelzellbelag der Schleimhäute bevorzugte Eindringstellen der Parasiten sind. Als solche Defekte gibt der Autor z.B. Wurmschäden, wie Nematodenknötchen in der Magenschleimhaut und durch Amöben verursachte Schäden an. Er fand Toxoplasmen und Amöben in der Submukosa der Magenschleimhaut, die sich als besonders häufig infiziert erwies. Da das Magengewebe der Mäuse in den eigenen Versuchen nicht auf Wurm- oder mechanische Schäden (eventuell verursacht durch die Fütterung mit der Magensonde) untersucht worden ist , wäre eine gelegentliche Ansiedlung der Parasiten an solchen Mikroläsionen durchaus denkbar.

Andererseits aber sei darauf hingewiesen, daß die Vermutungen von HILGENFELD nicht bestätigt werden konnten, wonach gerade die Magenschleimhäute bevorzugte Eindringstellen für die Parasiten sind. HILGENFELD hat seine Ergebnisse allerdings auch an verendeten Tieren gewonnen, die an einer generalisierten Toxoplasmose gestorben waren, so daß die Parasiten bereits den gesamten Wirtskörper überschwemmt hatten. Dadurch war es HILGENFELD auch gelungen, die Parasiten in der Schleimhaut der Blasenwand, in der Milch, den Speicheldrüsen, den Konjunktiven, in den akzessorischen Geschlechtsdrüsen, im Bronchialexsudat und Nasensekret nachzuweisen.

LAINSON (1954), der weiße Mäuse untersucht hatte, die nach oraler Infektion mit dem RH-Stamm an einer akuten Toxoplasmose gestorben waren, fand dagegen nie Parasiten im Ösophagus und Magen der Tiere.

Wie bereits erwähnt, fand ich im Duodenum nie Cysten. Der Inhalt des Duodenums wurde sowohl in unfixierten Lebend- und nach GIEMSA gefärbten Präparaten, als gelegentlich auch mit fluoreszierenden Antikörpern untersucht. Dabei konnten nicht nur keine Cysten nachgewiesen werden, sondern die Einzelparasiten waren auch äußerst schwer und nur vereinzelt zu erkennen, obgleich durch das Platzen der Cysten viele Parasiten frei geworden waren.

Diese schlechte Anfärbbarkeit der Parasiten könnte einmal nur an ihrem physiologischen Zustand liegen, der sich sicher mit dem Alter der Cysten ändert. In den Versuchen waren die verwendeten Cysten immer älter als 6 Wochen. Während der Wachstumsperiode der Cysten soll sich nach LAINSON (1958) die Anfärbbarkeit des Cytoplasmas der Parasiten laufend ändern. Zunächst gut anfärbbar, ließ sich nach ca 26 Tagen nach der Infektion nur noch der Kern gut anfärben. Derselbe Autor (1954) fand, daß Toxoplasmen, die frei im Darmlumen von an einer akuten Toxoplasmose gestorbenen Mäusen waren, sich nach GIEMSA heller rosa färbten als die in Geweben. Zum anderen könnte sich das Cytoplasma der Parasiten allein durch die Berührung mit dem Magen- und Darmsaft so verändert haben, daß sich da-

durch die Unterschiede in der Anfärbbarkeit sowohl nach GIEMSA, als auch mit fluoreszierenden Antikörpern erklären ließen. Vielleicht ist hierin auch ein Teil der hohen toxischen Wirkung des Darminhaltes auf die Versuchstiere zu suchen.

Bei den Experimenten mit der Darmwand des Duodenums und der ersten Jejunum-Abschnitte fällt es auf, wie schnell die Parasiten in das Gewebe eindringen. Diese Ergebnisse stimmen gut mit denen anderer Autoren überein, die diese an Zellkulturen gewonnen haben.

SOURANDER und seine Mitarbeiter (1960) z.B. verwendeten den RH-Stamm und beimpften Kulturen von Krebszellen des Detroit-6-Stammes und menschlicher embryonaler Nierenzellen mit frischem Mäuseexsudat. Sie stellten fest, daß bereits 15 Minuten nach der Beimpfung die Parasiten in die Zellen eingedrungen waren. In der Zelle nehmen die Toxoplasmen an Größe zu, und die erste Längsteilung erfolgt 2 bis 3 Stunden nach der Impfung. Später geht die Vermehrung wesentlich schneller (weniger als 1 Stunde) vor sich. Ungefähr nach 2 Tagen platzen die Wirtszellen. Die freigewordenen Parasiten zeigen besonders in den ersten Minuten nach dem Platzen der Zellen eine starke Eigenbewegung. Diese Beobachtungen SOURANDERS werden von LUND et al. (1961) bestätigt, die außerdem feststellten, daß die Toxoplasmen bald nach Platzen der Wirtszelle ihre Beweglichkeit verlieren, vorher aber neue angrenzende Wirtszellen befallen können.

Den Parasiten könnte durch die starke Resorption und den Aufschluß der Nahrung, die gerade in dem pylorusnahen Duodenalabschnitt stattfindet, das Eindringen in das Gewebe erleichtert worden sein, wodurch sich auch ein deutlicher Unterschied der Invasionsstärke in den beiden ersten Darmstücken erklären ließe. Auch HILGENFELD (1964) fand gerade die pylorusnahen Darmabschnitte der Känguruhs besonders dicht mit Parasiten besiedelt.

Die Parasiten scheinen sich in der Darmwand zu vermehren, vor allem diejenigen, die in den Endabschnitt des Duodenums

und in den ersten Abschnitt des Jejunums eingedrungen sind. Ob die Vermehrung in den Darmzellen oder Lymphknötchen stattfindet, bleibt ungewiß, da dies in Tierversuchen nicht geklärt werden konnte. Hierfür könnte die Methode der markierten, fluoreszierenden Antikörper wertvolle Hilfe leisten.

Für eine Annahme, nach der sich die Parasiten besonders in den Lymphfollikeln der Darmwand teilen, spricht es, daß diese Zellen besonders gehäuft in den Endabschnitten des Duodenums und in den ersten Teilen des Jejunums als sog. PEYERsche Flecken liegen. Bereits LAINSON (1954) vermutete bei seinen histologischen Untersuchungen am Darm von an akuter Toxoplasmose gestorbenen Mäusen, daß die Nekroseherde in der Darmwand, die durch die Vermehrung von Toxoplasmen entstanden waren, ihren Ursprung in den PEYERschen Flecken hatten. Auch stellte ich in dem pylorusnahen Duodenalabschnitt, der nur wenige Lymphknoten enthält, nur eine leichte Vermehrung fest. Wahrscheinlich werden die Parasiten hier mit dem Lymphstrom schnell weiter in die Mesenteriallymphknoten transportiert, wo wohl erst die eigentliche Vermehrung stattfindet. Bereits 1957 war es DESMONTS gelungen, Toxoplasmen aus den mesenterischen Drüsen von Meerschweinchen zu isolieren, die er 3 Tage nach der infektiösen Mahlzeit getötet hatte. Zu diesem Zeitpunkt konnte er die Erreger in den anderen Eingeweiden nicht nachweisen.

Offenbar ist das bevorzugte Transportmedium nach oraler Infektion die Lymphe. Einmal konnten bis zu 24 Stunden post infectionem keine Erreger im Blut nachgewiesen werden, zum anderen war die Lunge das erste Organ, aus dem die Parasiten isoliert werden konnten. Bereits 3 Stunden nach der Infektion wies ich Toxoplasmen in diesem Organ nach. Da der gesamte Chylus in den Ductus thoracicus gelangt und dieser in den Angulus venosus sinister, also in das Venensystem, in Höhe der Lunge mündet, können in dem Chylus befindliche Parasiten zunächst in die Lunge transportiert werden und sich dort festsetzen. Auch MØLLER (1961) blaibt nach Beobachtungen an verschiedenen

Haustierarten, daß nach einer oralen Infektion die Überschwemmung des Wirtskörpers mit Parasiten zunächst in der Lunge beginnt und dann auf die anderen Organe übergreift. Bevor ich die Mäuse infizierte, säuberte ich die verwendete Sonde von außen mit Fließpapier, um anhaftendes, infektiöses Material zu entfernen. Da die Suspension mit Hilfe der Sonde direkt in den Magen der Tiere gefüllt wurde und ich nicht beobachten konnte, daß die Tiere sich beim Infizieren verschluckten oder die Suspension erbrachen, wird das Eindringen der Parasiten in die Lunge über die Luftröhre recht unwahrscheinlich. Außerdem gelang mir 2 Stunden nach der Infektion in dem Lungengewebe kein Erregernachweis.

Wie bereits erwähnt, scheint das Blut als Transportmedium zunächst eine untergeordnete Bedeutung zu haben. In einer Zeitspanne von 2-24 Stunden post infectionem war es mir nicht möglich, die Erreger im Blutstrom nachzuweisen. Erst 3 Tage nach der Infektion gelang mir die Isolierung einer großen Parasitenzahl aus dem Blut. Da zu diesem Zeitpunkt besonders auch aus den blutreichen Organen, wie Milz und Leber, viele Parasiten isoliert werden konnten, ist eine Parasitämie im Blut wahrscheinlich. Mit dem strömenden Blut könnten die Erreger den gesamten Wirtskörper überschwemmen. LAVEN & WESTPHAL (1950) stellten fest, daß nach intravenöser Infektion mit einem hochvirulenten Stamm die Parasiten zunächst erwartungsgemäß frei im Blut auftreten. Daran schließt sich eine Zeitspanne ohne Befall des Blutes durch die Parasiten an. Bevor der Wirt stirbt, treten die Toxoplasmen jedoch wieder im strömenden Blut auf, wobei ihre Zahl einige Stunden vor dem Exitus des Wirtes am größten ist. Die Autoren nehmen an, daß sich die Parasiten nach intravenöser Infektion in blutbahnnahen Geweben festsetzen und sich intrazellulär vermehren. Von hier aus gelangen sie nach einiger Zeit wieder passiv oder aktiv in die Blutbahn.

Ogleich die Toxoplasmen über die gesamte Länge des Dünndarms ihre Lebens- und Infektionsfähigkeit behalten, scheinen sie nicht mit dem Kot ausgeschieden zu werden, um dann wieder in Mäusen eine Infektion hervorrufen zu

können. Nicht nur zu dieser Frage durchgeführte Fütterungsversuche schlugen fehl, sondern gesunde Tiere steckten sich auch nie an, wenn sie mit kranken in einem Käfig lebten und häufig deren Kot fraßen. Auch NAKAYAMA et al. (1961) hatten bereits festgestellt, daß keine Übertragung nur durch Zusammenleben von gesunden und kranken Tieren stattfindet. Es konnten also die Angaben von RIFAAT & MORSY (1962) nicht bestätigt werden, in deren Experimenten sich Mäuse durch Zusammenleben mit kranken Tieren infiziert hatten und in denen sich der Kot von Meer-schweinchen nach Verimpfung an Mäuse als infektiösfähig erwies.

Vor einiger Zeit veröffentlichte HUTCHISON (1965) eine Arbeit, nach der es ihm gelungen war, Mäuse mit Toxoplasmen zu infizieren, wenn er sie mit einer Suspension aus Eiern von *Toxocara mystax* mit einer Magensonde fütterte. Diese Nematodeneier stammten aus den Fäkalien einer experimentell mit dem bei Mäusen cystenbildenden BEVERLEY-Toxoplasma-Stamm infizierten Katze.

Zwei meiner Versuchstiere, deren Kot ich an gesunde Mäuse verfütterte, hatten Bandwürmer (*Hymenolepis fraeterna*). Obgleich ich dadurch in großer Zahl Bandwurmeier verfütterte, gelang mir in keinem Fall eine Toxoplasma-Infektion. Hierzu sei aber gesagt, daß ich die Versuchstiere bereits 24 Stunden nach der infektiösen Mahlzeit getötet hatte. HUTCHISON hingegen hatte mit dem Sammeln der Fäkalien erst 14 Tage post infectionem begonnen. Es könnte also sein, daß die eigenen negativen Ergebnisse darauf zurückzuführen sind, daß die Zeitspanne von einem Tag zu kurz für die Toxoplasmen war, als daß sie in irgendeiner Form in die Wurmeier hätten gelangen können. Außerdem verwendete HUTCHISON für seine Experimente eine Nematodenart.

Er erzielte bei weißen Mäusen Infektionen, obwohl er in der verwendeten Suspension von Wurmeiern nichts fand, was auf lebende Toxoplasmen hätte schließen lassen.

Gegenwärtig ist es noch nicht möglich, eine klare Aussage darüber zu machen, auf welche Weise Toxoplasmen auf natürlichem Weg übertragen werden, da außer dem connatalen Übergang von Mutter auf Kind bei Säugetieren bisher noch keine natürlichen Infektionswege bewiesen worden sind und der Lebenszyklus der Erreger bis heute noch nicht geklärt werden konnte. Daher könnten Toxoplasmen ebenso gut in irgendeiner lebensfähigen Form in Wurmeiern mit dem Kot ausgeschieden, wie auch durch andere Mittel und Wege übertragen werden, wobei wohl dem oralen Übertragungsweg eine besondere Bedeutung zugesprochen werden muß.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit waren Untersuchungen zur Klärung des oralen Infektionsweges von *Toxoplasma gondii*. In den Experimenten wurde den Versuchstieren die Cystenform künstlich peroral appliziert. Da die orale Übertragung von Tier zu Tier bei Carnivoren als einer der häufigsten Infektionswege angesehen wird, erscheint die Fragestellung der vorliegenden Arbeit als besonders gerechtfertigt.

Als Versuchstiere dienten weibliche weiße Mäuse des amerikanischen NMRI-Stammes, die sich in laufend durchgeführten Kontrollen immer als von Toxoplasmen frei erwiesen hatten.

Für die Versuche wurden der für Mäuse hochvirulente Toxoplasma-Stamm Bk und der cystenbildende ALT-Stamm verwendet.

1. Fütterungsversuche mit einer Hirnsuspension und mit verdünntem und unverdünntem Exsudat des Bk-Stammes verliefen negativ.
2. Verabreichung des verdünnten und unverdünnten Exsudates mit einer Sonde rief Erkrankung an Toxoplasmose hervor; durch eine Sonde verfütterte, mit dem Bk-Stamm infizierte Hirnsuspension hatte keine Infektion zur Folge.
3. Im Gegensatz zu den Versuchen unter Punkt 1 verliefen Fütterungs- und Sondenversuche mit cystenhaltigem Hirnmaterial immer erfolgreich. Bestätigung zahlreicher Literaturangaben.
4. Keine zeitliche Differenz im ersten Auftreten von Cysten im Hirn durch verschiedene Infektionswege (intraperitoneal, Sondenfütterung, Fressen). Kleinste Cysten wurden im Hirn nach 5-6 Tagen mit Hilfe markierter, fluoreszierender Antikörper nachgewiesen.
5. Noch nach 45 Minuten Verdauungszeit konnten im Magen nach einmaliger Sondenfütterung mit infektiösem Hirnmaterial gut erhaltene Cysten gesehen werden, während das

nach einer 60-minütigen Verdauungszeit nicht mehr gelang.

6. Bis zu 120 Minuten blieb der Mageninhalt nach einmaliger Sondenfütterung mit Hirnsuspension infektiös. Nach 180 Minuten konnten keine Parasiten mehr isoliert werden.

7. In die Magenwand drangen die Erreger während dieser Zeit nicht ein.

8. Im Inhalt des Duodenums wurden durch mikroskopische Überprüfung in keinem Fall Cysten gefunden.

9. Der Inhalt des Duodenums war nach einmaliger Fütterung mit Hirnmaterial sehr infektiös, wobei die Infektionsfähigkeit innerhalb einer 4-stündigen Verdauungszeit konstant blieb. Noch nach 73 Stunden konnten aus ihm Parasiten isoliert werden.

10. In den pylorusnahen Abschnitten der Duodenum-Wand drangen die Parasiten bevorzugt ein, bereits nach 15 Minuten Nachweis der Parasiten im Gewebe. Im hinteren Teil des Duodenums war die Invasion nicht so massiv.

11. Erste Vermehrung der Parasiten nach 3-4 Stunden in der Darmwand, besonders des Endabschnittes des Duodenums, hier wahrscheinlich in den Lymphfollikeln. Nach 73 Stunden noch Funde der Erreger in der Darmwand.

12. Über die gesamte Länge des Dünndarms blieben die Toxoplasmen im Lumen lebensfähig, drangen aber im Jejunum und Ileum nur noch in sehr geringem Maße in die Darmwand ein. Der Inhalt dieser Darmabschnitte wurde bis zum Ablauf einer Verdauungszeit von 180 Minuten nach einmaliger Infektion untersucht.

13. Nach intraperitonealer Verimpfung und Sondenfütterung erwies sich der Kot in keinem Fall als infektiös.

14. Intraperitoneale Verimpfung des Gewebes der Colon- und Rectum-Wand von Tieren, die mit infektiösem Hirnmaterial gefüttert worden waren, führte zu keiner Toxoplasma-Infektion in den gesunden Mäusen.

15. Die Erreger treten 2-24 Stunden post infectionem nicht im Blut auf (nach einmaliger per-os-Infektion mit cystenhaltigem Gehirnmateral). Nach 72 Stunden konnten Parasiten in großer Anzahl aus dem Blutstrom isoliert werden.
16. Die Lunge war das am frühesten und stärksten befallene Organ nach oraler Infektion, Parasitennachweis 3 Stunden post infectionem.
17. In der Milz wurden Toxoplasmen erst 24 Stunden nach Infektion gefunden, in Leber und Hirn erst nach 73 Stunden.
18. Es hat sich also gezeigt, daß im Gegensatz zu dem für weiße Mäuse hochvirulenten Toxoplasma-Stamm Bk eine orale Übertragung mit Hirnmateral vom bei weißen Mäusen cystenbildenden Toxoplasma-Stamm ALT möglich ist. Die Parasiten passieren ungeschädigt den Magen, gelangen in das Darmlumen und dringen erst dort an bevorzugten Stellen in die Mucosa ein. Von hier gelangen sie in den Wirtskörper. Lunge, Milz und Leber werden nacheinander befallen, bevor die Parasiten sich im Gehirn festsetzen. Sie sind über die gesamte Länge des Dünndarms im Lumen lebensfähig, werden aber nicht infektiösfähig mit dem Kot ausgeschieden.

F. LITERATUR

1. ADAMS F.H., COONEY M.,
ADAMS J.M., KABLER P.,
1949 Experimental Toxoplasmosis
Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
70, (2), 258
2. ALEXANDER C.M.,
CALLISTER J.W.,
1955 Toxoplasmosis of newborn:
Histologic changes in
mother's lymph node with
presumption isolation of
Toxoplasma from mother's
lymph node by mouse passage
A.M.A. Arch. Path. 60, 563-74
3. AKINSHINA G.T., 1964 Multiplication of Toxoplasma
in tissue culture
Zool. Zh. 43, (1), 131-32
4. AWAD F. J., 1954 The diagnosis of Toxoplasmosis.
Lack of specificity of SABIN-
FELDMAN- dye test.
Lancet 267, 1055-56
5. BEATTIE C.P., 1957 Clinical and epidemiological
aspects of Toxoplasmosis
Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.
51, 96
6. BEATTIE C.P., 1964 Toxoplasmosis
veröffentlicht im Rahmen der
Lister Fellowship
7. BEVERLEY J.K.A.,
BEATTIE C.P., 1952 Standartization of the dye
test for Toxoplasmosis
J. Clin. Path. 5, (4), 350-53
8. BIOCCA E., 1956 Alcune considerazioni sulla
sistematica dei protozoi e
sulla utilita di creare una
nuova classe di protozoi
Rev. Brasil. Malariol. 8, 91-102
9. BLANC G., BRUNEAU J.,
CHABAUD A., 1950 Quelques essais de trans-
mission de la toxoplasmose
par arthropodes piqueurs
Ann. Inst. Pasteur, 78, 277-80
10. BOCH J., ROMMEL M.,
1963 Serologische Untersuchungen
an Berliner Hunden auf
Toxoplasmose
Berlin. Münch. Tierärztl.
Wochensch. 76, (15), 292-96
11. BOCH J., ROMMEL M.,
JANITSCHKE K., 1964 Beiträge zur Toxoplasmose
des Schweines. II. Unter-
suchungen von Schlachtschwei-
nen auf Toxoplasma-Infektionen
Berlin. Münch. Tierärztl.
Wochensch. 77, (12), 244-47

12. CASSTELLANI A., 1914 Note on certain protozoon-like bodies in a case of protracted fever and splegnomegalie
J. Trop. Med. 17, 113

13. CHATTON E., BLANC G., 1917 Notes et réflexions sur le toxoplasme et la toxoplasmose du gondi
Arch. Inst. Pasteur, Tunis 10, (1-2), 1-40

14. CHEISSIN E.M., 1965 On the systematical position of toxoplasma in protozoa
Act. Prot. Warszawa, 2, (10), 111-13

15. COONS A.H., KAPLAN M.H., 1950 Localization of antigen in tissue cells
J. Exp. Med. 91, 1

16. COUVREUR J., DESMONTS G., GERBEAUX J., LELONG M., 1961 Verbreitungsweise der Toxoplasmosse beim Menschen
Arch. Franc. Pédiatrie 18, 1026-32

17. COWEN D., WOLF A., 1950 Experimental congenital toxoplasmosis III. Toxoplasmosis in the offspring of mice infected by the vaginal route. Incidence and manifestation of the disease
J. Exper. Med. 92, (5), 417-29

18. CROSS J.B., 1947 A cytologic study of toxoplasma with special reference to its effect on the host's cell
J. Inf. Dis. 80, 278-96

19. DESMONTS G., 1955 Sur la technique de l'épreuve de la lyse des toxoplasmes
Arch. Biol. Med. 31, (4), 193-98

20. DESMONTS G., LE TAN VINH, COUSIN L., 1957 L'isolement du toxoplasme par inoculation à l'animal
Rev. Franc. Clin. Biol. 2, 555-65

21. EICHENWALD H., 1948 Experimental toxoplasmosis I. Transmission of the infection in utero and through the milk of lactating female mice
Amer. J. Dis. Child, 76, 307-15

22. ERIKSSON S., HULDT G., WAHLGREN F., 1959 Case of acquired toxoplasmosis with microcyst in a lymph gland
Opusc. Med. Stockh. 4, 361-64
oder Kongr. Zbl. 210, 235, 1960

23. FELDMAN H.A., 1956 The relationship of toxoplasma antibody activator to the serum properdin system
Ann. N. Y. Acad. Sci. 66, 263-67
24. FLECK D.G., 1963 Antibodies of *Toxoplasma gondii*
J. Hyg. (Camb.) 61, 53-60
25. FRENKEL J.K., 1951 Pathology of chronic toxoplasmosis in the golden hamster
Am. J. Path. 27, (4), 746-47
26. FRITZ W., 1951 Über die Möglichkeit einer Übertragung von *Toxoplasma gondii* vom Hund auf den Menschen und über das Vorkommen des Erregers bei Tieren
Rev. Suisse Zool. 58, 449-56
27. FULTON J.D.,
SPOONER D.F., 1960 Metabolic studies on *Toxoplasma gondii*
Exp. Parasit. 2, (3), 293-301
28. GALOUZO J.G.,
ZASSUCHIN D.N., 1963 Bibliography of the native and foreign literature 1908-1962
Academy of Sciences of the Kasakh SSR Publishing House
Alma-Ata
29. GARD S.,
MAGNUSSON J., 1951 A glandular form of toxoplasmosis in connection with pregnancy
Acta Med. Scand. 141, (1), 59-64
30. GARNHAM P.C.C.,
LAINSON R., 1960 Sheep as a potential reservoir of *Toxoplasma gondii* for man
Lancet II, 71-74
31. GARNHAM P.C.C.,
BAKER J.R., BIRD R.G., 1962 Fine structure of cystic form of *Toxoplasma gondii*
Brit. Med. J. 83/84, (5271),
32. GAVIN M., WANKO T.,
JACOBS L., 1962 Electron microscope studies of reproducing and interkinetic toxoplasma
J. Protozool. 2, (2), 222-34
33. GEISSLER H., 1955 Untersuchungen über die Toxoplasmosse beim Huhn unter besonderer Berücksichtigung der Serodiagnostik
Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut der Justus Liebig-Hochschule in Gießen (Ztbl. Vet. Med. T.2)
34. GOLDMAN M., CARVER R.K.,
SULZER A.J., 1958 Reproduction of *Toxoplasma gondii* by internal budding
J. Parasit. 2, 161-71

35. GOLDSTEIN G., SLIZYS S., CHASE W.M., 1961 Studies on fluorescent anti-bodies staining
J. Exp. Med. 114, 89-110
36. GUILLO B., DESMONTS G., 1960 Diagnostic sérologique de la toxoplasmose. Essai d'application aux animaux de boucherie
Rec. Méd. Vét. 136, 383-98
37. GUSTAFSON P.V., AGAR H.D., CRAMER D.J., 1954 An electron microscope study of toxoplasma
Amer. J. Trop. Med. Hyg. 3, 1008-21
38. HAGEMANN E., SCHMIDT G., 1960 Ratte und Maus
Walter de Gruyter Verlag & Co Berlin
39. HARBOE A., ERICKSEN S., 1954 Toxoplasmosis in chickens. 3. Attempts to provoke a systematic disease in chickens by infection with a chicken strain and human strain of toxoplasma
Acta Path. Microbiol. Scand. T.35
40. HILGENFELD M., 1963 Toxoplasmose bei Zootieren eine mögliche Infektionsquelle für den Menschen
Z. ges. Hyg. Grenzgebiete 9, (8), 576-86
41. HILGENFELD M., 1964 Über Quellen und Wege der Toxoplasmainfektion des Känguruhs
VI. Int. Symp. Erkr. Zootiere Wien, 66-70
42. HOGAN M.J., YONEDA CH., FEENEY L., ZWEIGART PH., LEWIS A., 1960 Morphology and culture of toxoplasma
Arch. Ophthalm. 64, (5), 655-67
43. HOLZ J., BRINGMANN G., 1953 Zur Frage der Möglichkeit einer peroralen Infektion mit Toxoplasma gondii
Berlin u. Münch. Tierärztl. Wschr. 66, (9), 142-43
44. HOLZ J., 1954 Die Vermehrung von Toxoplasma gondii
Z. Hyg. Infektkr. 140, (2), 134-37
45. HUTCHISON W.M., 1965 Experimental transmission of Toxoplasma gondii
Nature, 206, (4987), 961-62

46. JACOBS L., WOKE P., JONES F.E., 1950 Studies on the transmission of *Toxoplasma gondii* J.Parasit. 36, (Suppl.), 36
47. JACOBS L., 1953 The biology of *Toxoplasma gondii* Amer. J. Trop. Med. Hyg. 2, 365-89
48. JACOBS L., 1956/57 Propagation, morphology, and biology of *Toxoplasma gondii* Ann.N.Y. Acad. Sc. 64, 154-79
49. JACOBS L., MELTON M.L., 1957 a Ein Verfahren, um Fleischproben auf Toxoplasmen zu untersuchen mit vorläufigen Ergebnissen einer Untersuchung von Schweine- und Rindfleischproben J. Parasit. 43, (38), Referat Nr. 100
50. JACOBS L., MELTON M.L., 1957 b Studies on the resistance of pseudocysts of *Toxoplasma gondii* J. Parasit. 43, (Suppl.), 38 Referat Nr.99
51. JACOBS L., REMINGTON J.S., MELTON M.L., 1960 a A survey of meat samples from swine cattle and sheep for the presence of the encysted toxoplasma J. Parasit. 46, 23-28
52. JACOBS L., REMINGTON J.S., MELTON M.L., 1960 b The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii* J. Parasit. 46, 11-21
53. JACOBS L., 1961 Toxoplasmosis in man and animals New Zealand Vet. 2, 85-91
54. JACOBS L., 1963 *Toxoplasma* and Toxoplasmosis Ann. Rev. Microbiol. 17, 429-50
55. JANKU J., 1923 Die Pathogenese und pathologische Anatomie des sogenannten Koloboms des gelben Fleckens im normal großen sowie mikrophthalmischen Auge mit Parasitenbefund in der Netzhaut Casop. lek. cesk. 62, 26 (deutsche Übersetzung: Ceskoslov. parasit. 6, 19-57, 1959)
56. JONES F.E., EYLES D.E., COLEMAN N., GIBSON C.L., 1958 A comparison of methods for the isolation of *Toxoplasma gondii* from suspected hosts Amer. J. Trop. Med. Hyg. 7, 531-35

57. JOSEPH R., DESMONTS G.,
COUVREUR J., 1957 Adénite mésentérique,
localisation initiale probable
d'une toxoplasmose acquise
Arch. Franc. Péd. 14, 405-408
58. KASS E., 1952 Experimental toxoplasmosis
Acta Path. Microbiol. Scand.
93, (Suppl.), 321-24
59. KIKKAWA Y., GUEFT B.,
1964 Toxoplasma cysts in the
human heart, an electron
microscopic study
J. Parasit. 50, (2), 217-25
60. KIMBALL A.C., BAUER H.,
SHEPPARD CH., HELD J.R.,
SCHUMAN L.M., 1960 Studies on Toxoplasmosis
Amer. J. Hyg. 71, 93-119
61. KIRCHHOFF H., KRÄUBIG H.,
1966 Toxoplasmose
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
62. KOZAR Z., WISOCKA F.,
SIKORSKA S., 1952 Studies concerning peroral
infection with toxoplasma
Bul. Stat. Inst. Marine &
Trop. Med. Gdansk, Poland
4, 37-39
63. KULASIRI C., DAS
GUPTA B., 1959 A cytochemical investigation
of the SABIN-FELDMAN-
phenomenon in Toxoplasma
gondii and an explanation
of its mechanism on this basis
Parasit. 49, (3-4), 586-93
64. KULASIRI C., 1962 The behaviour of suckling
rats to oral and intra-
peritoneal infection with
a virulent strain of
Toxoplasma gondii
Parasiti. 52, 193-98
65. LAINSON R., 1954 Infection with toxoplasma
oral route in the laboratory
mouse and subsequent
involvement of the alimentary
tract
Trans. Roy. Soc. Trop. Med.
Hyg. 48, 282-83
66. LAINSON R., 1958 Observations on the
development and nature of
pseudocysts and cysts of
Toxoplasma gondii
Trans. Roy. Soc. Trop. Med.
Hyg. 52, 396-407
67. LAVEN H., WESTPHAL A.,
1950 Die Übertragung von Toxo-
plasma gondii unter besonderer
Berücksichtigung des Blutes
als Infektionsquelle
Ztschr. Tropenmed. Parasit.
2, 221-235

68. LAVERAN A., 1900 Au sujet de l'hématozoaire endoglobulaire de *Padra oryzivora*
C. R. Soc. Biol. 52, 19-20
69. LAVERAN A., 1913 Présentation d'un chien infecté de toxoplasmose
Bull. Soc. Path. exot. 6, 294
70. LEPIE J., 1929 Conservation de *Toxoplasma cuniculi* dans le cerveau de la souris
Compt. Rend. Soc. Biol. 100, 262-64
71. LEVADITI C., SCHOEN R., L'encéphalo-myélite toxoplasmique chronique du lapin et de la souris
SANCHIS-BAYARRI V., 1928 C. R. Soc. Biol. Paris, 99, 37-40
72. LUDVIK J., 1956 Vergleichende elektronen-optische Untersuchungen an *Toxoplasma gondii* und *Sarcocystis tenella*
Zbl. Bakt. I Abt. Orig. 166, 60-65
73. LUDVIK J., Einfluss der Antikörper auf die *Toxoplasma*-Zellen im Elektronenmikroskop
PIEKARSKI G., 1963 a Prog. Protozool. Proc. Int. Congr. Protozool. 369
74. LUDVIK J., 1963 b Elektronenoptische Untersuchungen an einigen parasitischen Protozoen
Prog. Protoz. Int. Congr. Protozool. 387-92
75. LUDVIK J., 1963 c Intrazelluläre Verhältnisse zwischen den parasitierenden *Toxoplasma*-Zellen und Wirtszellen in verschiedenen infizierten Organen
Progr. Protoz. Proc. Int. Congr. Protozool. 370
76. LUND E., LYCKE E., A cinematographic study of *Toxoplasma gondii* in cell cultures
SOURANDER P., 1961 Brit. J. Exp. Path. 42, (4), 357-62
77. LYCKE E., 1965 Enhancement by lysozyme and hyaluronidase of the penetration by *Toxoplasma gondii* into cultured host cells
Brit. J. Exp. Path. 46, 189-99

78. MANWELL R.D., Mammilian and avian
COULSTON F., Toxoplasmosis
BINCKLEY E. C., JONES V.P., J. Inf. Dis. 76, 1-14
1945
79. MATSUBAYASHI H., Morphological studies on
AKAO SH., the development of
1963 toxoplasma cyst.
Amer. J. Trop. Med. Hyg.
12, 321-33
80. MATSUBAYASHI H., Immuno-electron microscopic
AKAO SH., studies on Toxoplasma
1966 gondii
Amer. J. Trop. Med. Hyg.
15, (4), 486-91
81. MELTON M.L., STANLEY A.M., The persistance of toxo-
JACOBS L., 1962 plasma in the intestinal
wall of chronically
infected mice
J. Parasit. 48, (Suppl. 37)
82. MESNIL F., Toxoplasmosse expérimentale
SARRAILHE A., de la souris: passage par
1913 les muqueuses; conservation
du virus dans le cadavre
A. Compt. Rend. Soc. Biol.
74, 1325-27
83. MESNIL F., Commento al lavoro di E.
1918 CHATTON a G. BLANC: Notes
et réflexions sur le
Toxoplasma et la toxoplasmosse
du gondi
Bull. Inst. Pasteur, 16, 71
84. MØLLER T., Toxoplasmosis, studies on
1961 the route of infection and
pathogenesis in domestic
animals
Acta Path. Microbiol. Scand.
51, (Suppl. 144), 235-37
85. MRAZ J., The oral transmission of
1959 Toxoplasmosis
Ceskoslov. Parasit. Prague,
6, 159-164
(Referat: Trop. Dis. Bull.
58, 1388, 1961)
86. NAKAJYO E., SENOO H., Toxoplasma gondii considered
1956 as causative agent of
oral infection
J. Osaka City Med. Center,
5, 98-105
(Referat: Kongrzb. 181,
282, 1957)

87. NAKAYAMA J.,
MATSUBAYASHI H., 1961 Experimental transmission
of *Toxoplasma gondii* in mice
Keio J. Med. 10, 163-79
88. NICOLAU S.,
KOPCIEWSKA L., 1935 Infection expérimentale des
petits oiseaux avec le
Toxoplasma canis
C.R. Soc. Biol. Paris, 119,
976-79
89. NICOLLE C.,
MANCEAUX L., 1908 Sur une infection à corps
de Leishman (ou organismes
voisins) du *gondii*
C. R. Acad. Sci. 147, 763-66
90. NICOLLE C.,
MANCEAUX L., 1909 Sur un protozoaire nouveau du
gondii - *Toxoplasma*
Arch. Inst. Pasteur Tunis,
2, 97-103
91. NUSSENWEIG R.S.,
DEANE M.B., 1958 Transmission of Toxoplasmosis
J. Amer. Med. Assoc.
167, 1865
92. OLISA E.G., 1963 The fine structure of
reproducing *Toxoplasma*
gondii
J. Parasit. 53, 643-49
93. PANDE P.G.,
SEKARIAT P.C.,
RAMACHANDRAN P.K., 1961 Studies on Toxoplasmosis
J. Inf. Dis. 108, (1), 68-74
94. PESTRE M., MANDOU L.,
NICOLAS J., 1962/63 Le mouton, réservoir du
virus de la toxoplasmose.
Recherches sur les
possibilités de la trans-
mission de l'agent pathogène
Bull. Soc. Pathol. exot.
55, (5), 789-97
95. PINKERTON H.,
WEINMAN D., 1940 *Toxoplasma* infection in
man
Arch.Path. 30, 374-92
96. REMINGTON J.S.,
MELTON M.L., JACOBS L., 1960 Chronic toxoplasma infection
in the uterus
J. Lab. Clin. Med. 56, 879-83
97. REMINGTON J.S., 1961 Experiments on the trans-
mission of toxoplasmosis
Surv. Ophthalmol. 6, (6),
pt 2, 856-67; 867-76
98. RIFAAT M.A., MORSY T.A.
1962 Experimental transmission
of toxoplasmosis in
laboratory animals and birds
J. Trop. Med. Hyg. 65,
314-17

99. DE RODANICHE E., 1954 Susceptibility of the marmoset (*Marikina geoffroyi*) and the night monkey (*Aotus zonalis*) to experimental infection with *Toxoplasma*
Amer. J. Trop. Med. 3, 1026-32
100. RODHAIN J., 1950 Formation des pseudokystes au cours d'essais d'immunité croisée entre souches différentes de *Toxoplasmes*
C. R. Soc. Biol. 144, 719-22
101. DE ROEVER-BONNET H., 1959 Experimental oral infection of animals with *Toxoplasma gondii*
Doc. Med. Geogr. Trop. Amsterdam, 11, 162-66
102. DE ROEVER-BONNET H., 1963 Mice and golden hamsters infected with an avirulent and a virulent *Toxoplasma* strain
Trop. Geogr. Med. 15, 45-60
103. ROMMEL M., MÜLLER I., 1963 Serologische Studien an Mäusen nach experimenteller Infektion mit einem *Toxoplasma*-Stamm vom Hund
Z. Parasitenkunde 23, 360-66
104. RUCHMAN J., FOWLER J.C., 1951 Localization and persistence of *Toxoplasma* in tissues of experimentally infected white rats
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 76, 793-96
105. SABIN A.B., OLITSKY P.K., 1937 *Toxoplasma* and obligate intracellular parasitism
Science, 85, 336-39
106. SABIN A.B., 1939 Biologic and immunological identity of *Toxoplasma* of human and animal origin
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 41, 75-80
107. SABIN A.B., 1941 *Toxoplasma* encephalitis in children
J. Amer. Med. Ass. 116, 801-807

108. SABIN A.B.,
FELDMAN H.A., 1948 Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (Toxoplasma)
Science, 108, (2815), 660-63
109. SANGER V.L., COLE C.R., 1955 Toxoplasmosis, isolation of Toxoplasma from milk, placentas, and newborn pigs of asymptomatic carrier sows
Amer. J. Vet. Res. 16, 536-39
110. SCHMIDTKE L., 1954 a Zur oralen Übertragbarkeit der Toxoplasmose
Zbl. Bakt. Orig. 160, (6), 470-78
111. SCHMIDTKE L., 1954 b Bemerkungen zur Verfütterung von Toxoplasma gondii an Versuchstiere
Z. Tropenmed. 5, 182-83
112. SCHMIDTKE L., 1955 Zur Frage der Dauerausscheidung bei Toxoplasmose
Zbl. Bakt. I Orig. 164, 132
113. SCHMIDTKE L., 1956 Zur Übertragung der Toxoplasmose durch Verfütterung von parasitenhaltigem Gewebe
Z. Tropenmed. Parasit. 7, 80-86
114. SCHMIDTKE L., 1963 Serologie der Toxoplasmose
Der Internist, 4, (10), 425-29
115. SCHOLTYSECK E.,
PIEKARSKI G., 1965 Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Merozoiten von Eimerien (Eimeria perforans und Eimeria stiedae) und Toxoplasma gondii
Z. Parasitenk. 26, 91-115
116. SHEVKUNOVA E.A.,
GENERALOVA 1963 a Ways of eliminating Toxoplasma from the bodies of sick animals
Med. Parazit. i Parazitar. Bolezni, 32, (4), 451-54
117. SHEVKUNOVA E.A., 1963 b Comparative evaluation of various modes of Toxoplasmosis infection
J. Microbiol. Moskau, 40, (3), 106-10

118. SIMIC C.,
PETROVIC ZL.,
BORDJOCHSKI A., 1957 L'infection expérimentale
du chien avec Toxoplasma
gondii par la voie buccale
Arch. Inst. Pasteur
Algérie, 35, 368-71
119. SIMIC C.,
PETROVIC ZL.,
BORDJOCHSKI A., 1958 La toxoplasmose chronique
du chien et l'isolement de
Toxoplasma gondii dans
telles formes de l'infection
Acta Vét. 8, (2), 7-14
120. SIMIC C.,
PETROVIC ZL.,
BORDJOCHSKI A., 1959 a Contribution à la
connaissance de la virulence
de Toxoplasma gondii pour
le chat
Arch. Inst. Pasteur
Algérie, 37, 286-91
121. SIMIC C., 1959 b Contribution à la
connaissance de la virulence
de Toxoplasma gondii pour
Carduelis carduelis L.
Arch. Inst. Pasteur
Algérie, 37, 409-11
122. SIMIC C., SAVIN Z.,
BORDJOCHSKI A., 1961 L'infection de la poule avec
Toxoplasma gondii par la
voie buccale (Note
Préliminaire)
Arch. Inst. Pasteur
Algérie, 39, (4), 441-46
123. SIMIC C.,
BORDJOCHSKI A.,
SAVIN Z., 1963 L'infection du canard par
la forme cystique de
Toxoplasma gondii
Réc. Méd. Vét. Ecole Alfort,
139, (5), 403-406
124. SIMIC C.,
BORDJOCHSKI A.,
SAVIN Z., 1964 a Infection expérimentale de
la poule par l'administration
de Toxoplasma gondii par
les voies buccale et
intrapéritonéale
Réc. Méd. Vét. Ecole Alfort,
140, (10), 849-58
125. SIMIC C., 1964 b Infection of dogs by the
vegetable and cystic forms
of Toxoplasma gondii
Bull. Acad. Vét. France,
37, 507-10
126. SIMIC C.,
PETROVIC A., 1964 c Infection de l'oie per os
par la forme kystique et
la forme végétative de
Toxoplasma gondii
Réc. Méd. Vét. Ecole Alfort,
140, (1), 27-31

127. SIMIC C., 1965 a Experimental infection of the quail (*Coturnix coturnix* L.) per os, with the vegetative and cystic form of *Toxoplasma gondii* Bull. Acad. Vét. France, 38, 27-29
128. SIMIC C., 1965 b Infection per os of the guinea-fowl (*Numida meleagris*) with the vegetative and cystic form of *Toxoplasma gondii* Bull. Acad. Vét. France, 38, 31-32
129. SMETANA A., 1962 Pokus per orani prenos *Toxoplasma gondii* u bilé laboratorní myši Cekoslov. Epidemiol. Mikrobiol. Immunol. 11, 308-15
130. SOURANDER P., LYCKE E., LUND E., 1960 Observations on living cells infected with *Toxoplasma gondii* Brit. J. Exp. Path. 41, (2), 176-78
131. SPLENDORE A., 1908 Un nuovo protozoa parassita de conigli Rev. Soc. sc. Sao Paulo, 3, 109-12
132. SPLENDORE A., 1913 Des formes flagellées et des gamètes dans le *Toxoplasma cuniculi* Bull. Soc. Path. Exot. 6, (3), 318-23
133. STÖRMANN F., 1962 Zum Problem der Übertragung von *Toxoplasma gondii* auf den Menschen durch Schlachtfleisch Inaug. Dis. Med. Fak. Univ. Bonn
134. STRASSMANN H., 1964 Zum Vorkommen von *Toxoplasma gondii* im Schlachtfleisch. Zugleich ein Beitrag über die Beziehung zwischen Infektion und Antikörperbildung bei *Toxoplasma*-Infektionen Inaug. Dis. Med. Fak. Univ. Bonn
135. VAN THIEL P.H., VAN DER WAAIJ D., 1956 The significance of pseudocysts in the oral infection of man and animals with *Toxoplasma gondii* Doc. Med. Geogr. Trop. 8, 392-96

136. VALLEE A., GROULADE P.,
LEVADITI J.C.,
DESMONTS G., VIRAT J.,
1961 Contribution à l'étude
de la Toxoplasmose
expérimentale du chien
Bull. Acad. Vét. France,
34, 43-52
137. VARELA G., 1961 Trials of transmission
of toxoplasmosis by insects
Rev. Inst. Salubridad
Enferm. Trop. 21, (3/4),
140-48
138. VISCHER W.A.,
SUTER E., 1954 Intracellular multiplication
of Toxoplasma gondii in
adult mammilian macrophages
cultivated in vitro
Proc. Soc. Exper. Biol.
Med. 86, (3), 413-19
139. VOSS H., im Druck
(et al.) Die Koppelung von Immunseren
mit Fluorescein-Isotio-
cyanat
140. VAN DER WAAIJ D.,
1959 Bildung, Wachstum und Ver-
mehrung von Toxoplasma
gondii Cysten in Mäusehirnen
Trop. Geogr. Med.
Amsterdam, 11, 345-60
141. WANKO T., JACOBS L.,
GAVIN M.A., 1962 Electron microscope study
of Toxoplasma cysts in
mouse brain
J. Protozool. 9, 235-42
142. WARREN J., RUSS S.,
1948 Cultivation of Toxoplasma
in embryonated egg. Antigen
derived from chorio-
allantoic membrane
Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
67, (1), 85-89
143. WEINMAN D.L.,
CHANDLER A.H., 1954 Toxoplasmosis in swine and
rodent. - Reciprocal oral
infection and potential
human hazard
Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
87, 211
144. WEINMAN D.L.,
CHANDLER A.H., 1956 Toxoplasmosis in swine and
men, an investigation of
the possible relationship
J. Amer. Med. Ass. 161, 229-32
145. WEINMAN D.L.,
CHANDLER A.H., 1960 Summary of studies on the
epidemiology of Toxoplasmosis
with particular reference
to the role of swine
"Human Toxoplasmosis",
Munksgaard, Copenhagen, 184-88

146. WEISS F., 1962 Nachweis von *Toxoplasma gondii* im Schlachtfleisch durch perorale Infektion von Ratten
Inaug. Dis. Med. Fak. Univ. Bonn
147. WERNER H., SEIDLITZ P., 1960 a Über die Infektion des Trophoblasten bei der Maus durch *Toxoplasma gondii*
Zbl. Bakt. I Abt. Orig. 178, (1), 118-35
148. WERNER H., SEIDLITZ P., 1960 b Experimenteller Beitrag zur connatalen Toxoplasmose
Zbl. Bakt. I Abt. Orig. 178, (2), 250-62
149. WERNER H., SEIDLITZ P., 1960 c Über den Verlauf der Toxoplasma-Infektion in Uterus, Tube und Ovar von Maus und Goldhamster nach intrauteriner Injektion
Zbl. Bakt. I Abt. Orig. 178, (3), 393-406
150. WERNER H., 1963 a Zur Terminologie der Entwicklungsstadien von *Toxoplasma gondii*
Zbl. Bakt. I Abt. Orig. 188, 121-31
151. WERNER H., 1963 b Biologie, Übertragungswege und Nachweis von *Toxoplasma gondii*
"Der Internist" 4, (10), 421-25
152. WERNER H., SCHMIDTKE L., THOMASCHECK G., 1963 c Toxoplasma-Infektion und Schwangerschaft. Der histologische Nachweis des intrauterinen Infektionsweges
Klinische Wochenschr. 41, (2), 96-101
153. WERNER H., 1966 a Über den Nachweis von *Toxoplasma gondii* durch den Tierversuch. I. Mitteilung: Fehlschlüsse in der Beurteilung mikroskopischer Zysten-Funde in Organsuspensionen
Ztschr. Trop. Parasit. 17, (2), 217-25
154. WERNER H., 1966 b Über den histologischen Nachweis von *Toxoplasma gondii* (Trophozoite und Proliferationsformen) bei Tier und Mensch unter besonderer Berücksichtigung der Generationsorgane
Zbl. Bakt. I Abt. Orig. 199, 234-48

155. WESTPHAL A.,
FINKE L., 1950/51 Der Hund als epidemiologi-
scher Faktor der Toxoplas-
mose des Menschen
Z. Trop. Med. Parasit. 2,
236-39
156. WESTPHAL A., 1954 Zur Systematik von Toxoplasma
gondii. Die Toxoplasmen als
Trypanosomidae
Z. Trop. Parasit. 5, 145-82
157. WILDFÜHR G., 1956/57 Experimentelle Versuche zur
Resistenz der Toxoplasmen
Z. Hyg. Infektionskr. 143,
134-39
158. WINSSER J., VERLINDE J.D., Isolation of Toxoplasma
VAN THIEL P.H., DAVEL J., from cerebrospinal fluid
VAN DER ELST P., of a living infant in
1948 Holland
Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
67, 292-94
159. WOKE P.A., JONES F.E., Experimental results on
JACOBS L., MELTON M.L., possible arthropod trans-
1953 mission of Toxoplasmosis
J. Parasit. 39, 523-32
160. WOLF A., COWEN D., Granulomatous encephalo-
1937 myelitis due to an
encephalitozoon. A new
protozoen disease of man
Bull. Neurol. Inst. N. Y.
6, 307-71
161. WOLF A., COWEN D., Human toxoplasmosis:
PAIGE B.H., 1939 Occurrence in infants as an
encephalomyelitis. Verifi-
cation by transmission to
animals
Science 89, (2306), 226-27
162. WOLF A., COWEN D., Toxoplasmic encephalomyelitis
PAIGE B.H., 1940 J. Exp. Med. 71, 187-214
163. WOOD B.T., Fluorescent antibody staining
THOMPSON S.H., J. Imm. 95, 225-29
GOLDSTEIN G., 1965
164. ZASSUKHIN D.N., Observations on the biology
1963 of Toxoplasma gondii
Prog. Protoz. Proc. Int.
Congr. Protozool. 366-68

LEBENS LAUF

Am 3.12.1939 wurde ich, Gerda Mannesmann, geb. Schöler, als älteste Tochter des Oberbergrates Dr.jur. Dipl.Ing. Karl Schöler und seiner Ehefrau Helmutrud, geb. Lorenz in Brüx im Sudetenland geboren. Ich bin römisch-katholischer Konfession. Von meinem zweiten Lebensjahr an lebten meine Eltern und ich in Komotau, wo 1943 meine Schwester Susanne zur Welt kam.

Nach der im Mai 1945 erfolgten Ausweisung aus unserer Wohnung durch sowjetische Truppen wurden meine Mutter, meine Schwester und ich im Sommer 1946 in ein Lager nach Oberröbblingen in Sachsen ausgesiedelt, in dem man uns dann als neuen Wohnsitz Schköna bei Bitterfeld zuteilte. Hier trat ich im Herbst 1946 in die Volksschule ein.

Nachdem mein Vater 1946 aus der amerikanischen Kriegsgefangenschaft nach Alversdorf bei Helmstedt entlassen worden war, zogen wir im Zuge der Familienzusammenführung zu ihm. In Alversdorf besuchte ich die Volksschule weiter bis zur 4. Klasse.

Von Ostern 1950 an war ich Schülerin an dem Städtischen Lyzeum in Helmstedt. Im Sommer 1950 wurde mein Vater an das Bergamt Dinslaken als Bergrat wieder einberufen. Im Herbst 1950 trat ich in die Sexta des Städtischen Mädchengymnasiums am Ort ein. Hier legte ich im Februar 1959 in der Oberprima meine Reifeprüfung ab.

Seit dem Sommersemester 1959 studierte ich an der Freien Universität Berlin Biologie mit dem Hauptfach Zoologie und den Nebenfächern Chemie und Botanik. Im Wintersemester 1961/62 legte ich mit sehr gutem Erfolg das Vordiplom ab. Vom November 1963 an arbeitete ich an meiner Dissertation, deren experimentellen Teil ich am Robert-Koch-Institut in Berlin durchführte.

Im Mai 1965 wurde ich mit Herrn Rolf Mannesmann getraut.

